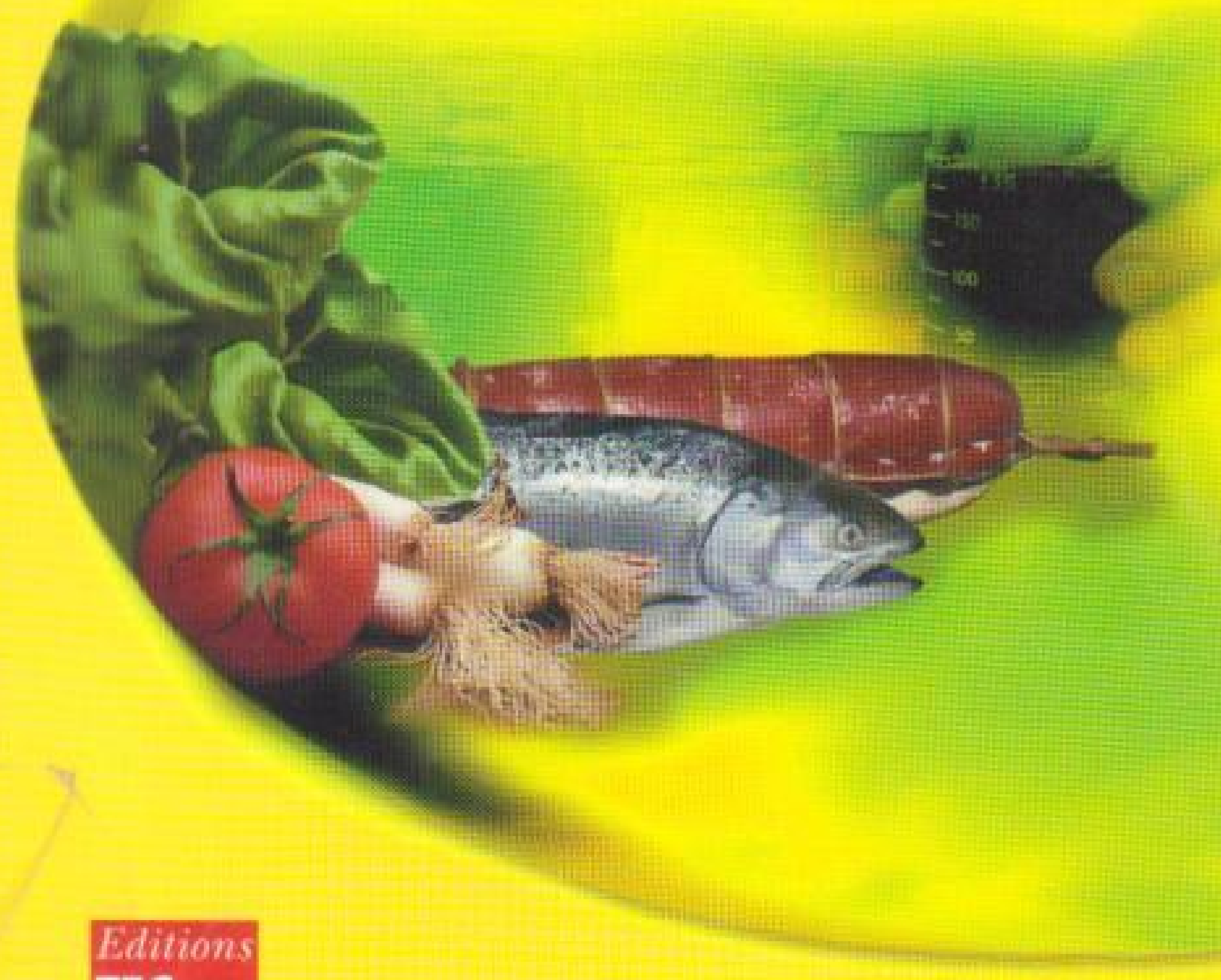
2. Technologie des produits alimentaires

Science des aliments

Biochimie • Microbiologie • Procédés • Produits

Romain Jeantet
Thomas Croguennec
Pierre Schuck
Gérard Brulé
coordonnateurs



Editions TEC & DOC

Lavoisier

Science des aliments

Biochimie — Microbiologie — Procédés — Produits

Volume 2

Technologie des produits alimentaires



Science des aliments

Biochimie — Microbiologie — Procédés — Produits

Volume 2
Technologie des produits alimentaires

Romain Jeantet
Thomas Croguennec
Pierre Schuck
Gérard Brulé

Coordonnateurs



11, rue Lavoisier
75008 Paris

LONDRES - PARIS - NEW YORK

Chez le même éditeur

Science des aliments : Biochimie – Microbiologie – Procédés – Produits
1. Stabilisation biologique et physico-chimique
R. Jeantet, T. Croguennec, P. Schuck, G. Brulé, coord., 2006

Les polyphénols en agroalimentaire
P. Sarni-Manchado, V. Cheynier, coord., 2006

Méthodes d'analyses immunochimiques pour le contrôle de qualité dans les IAA
P. Arbault, J. Daussant, coord., 2005

Risques et crises alimentaires
C. Lahellec, coord., 2005

Lipides et corps gras alimentaires
J. Graille, coord., 2003

L'eau dans les aliments
M. Le Meste, D. Lorient, D. Simatos, coord., 2002

Technologies de transformation des fruits
G. Albagnac, P. Varoquaux,
J.-C. Montigaud, coord., 2002

Additifs et auxiliaires de fabrication dans les industries agroalimentaires
J.-L Multon, coord., 2002

Aliments fonctionnels
M. B Roberfroid, coord., 2002

Technologie des légumes
Y. Tirilly, C.M Bourgeois, coord., 1999

Technologies des produits de charcuterie et des salaisons
P. Durand, coord., 1999



ISBN : 978-2-7430-0888-8

Liste des auteurs

Marc Anton
ingénieur, docteur en physico-chimie,
habilité à diriger des recherches
directeur de recherches unité
« biopolymères, interactions,
assemblages »
Inra – caractérisation et élaboration
des produits issus de l'agriculture
rue de la Géraudière
BP 71627
44316 Nantes cedex 3

Alain Baron
docteur en physiologie végétale,
habilité à diriger des recherches
directeur de l'unité de recherches
cidricoles
Inra – caractérisation et élaboration
des produits issus de l'agriculture
Domaine de la Motte
BP 35327
35653 Le Rheu cedex

Gérard Brulé
docteur en chimie organique
habilité à diriger des recherches
professeur émérite en physico-chimie
des bioproduits
Agrocampus - Rennes
département agroalimentaire
65, rue de St Brieuc
35042 Rennes cedex

Florence Charles
docteur en sciences des aliments
maître de conférences en post-récolte
et physiologie végétale
université d'Avignon et des Pays
de Vaucluse
département physiologie végétale
33, rue Louis Pasteur
84000 Avignon

Hubert Chiron
assistant ingénieur
responsable du fournil expérimental
INRA – BIA – MC2
Cepia
rue de la Géraudière
BP 71627,
44316 Nantes cedex 3

Thomas Croguennec
docteur en physico-chimie
et qualité des bioproduits
maître de conférences en physico-chimie
des bioproduits
Agrocampus - Rennes
département agroalimentaire
65, rue de St Brieuc
35042 Rennes cedex

Jean-Francois Drilleau
directeur de recherches
unité de recherches cidricoles
Inra – caractérisation et élaboration
des produits issus de l'agriculture
Domaine de la Motte
BP 35327
35653 Le Rheu cedex

Catherine Guérin-Dubiard
docteur en sciences chimiques
maître de conférences en science des aliments (halio-alimentaire)
Agrocampus - Rennes
département agroalimentaire
65, rue de St Brieuc
35042 Rennes cedex

Romain Jeantet
ingénieur, docteur en physico-chimie et qualité des bio-produits,
habilité à diriger des recherches
professeur en génie des procédés et technologie laitière
Agrocampus - Rennes
département agroalimentaire
65, rue de St Brieuc
35042 Rennes cedex

Valérie Lechevalier
ingénieur, docteur en physico-chimie et qualité des bioproduits
maître de conférences en science et technologie des aliments
Agrocampus - Rennes
département agroalimentaire
65, rue de St Brieuc
35042 Rennes cedex

Jean-Michel Le Quere
ingénieur de recherches,
unité de recherches cidricoles
Inra – caractérisation et élaboration des produits issus de l'agriculture
Domaine de la Motte
BP 35327
35653 Le Rheu cedex

Claude Masson
ingénieur, docteur d'état en nutrition de l'universite de Dijon
professeur, président du département
département agroalimentaire
Agrocampus - Rennes
65, rue de St Brieuc
35042 Rennes cedex

Francoise Nau
ingénieur, docteur en sciences agronomiques
professeur en science des aliments
Agrocampus - Rennes
département agroalimentaire
65, rue de St Brieuc
35042 Rennes cedex

Ludivine Perrocheau
docteur en sciences agroalimentaires
Inserm - Paris - Santé - U592
Hôpital Saint-Antoine - Bâtiment Kourilsky
184, rue du Faubourg Saint-Antoine
75571 Paris cedex 12

Philippe Roussel
ingénieur
professeur agrégé
université Pierre et Marie Curie
4, place Jussieu
75042 Paris

Pierre Schuck
docteur en physico-chimie et qualité des bio-produits
ingénieur de recherches
Inra - unité mixte de recherche sciences et technologie du lait et de l'œuf
65, rue de St Brieuc
35042 Rennes cedex

Jean-Louis Thapon
ingénieur, docteur sciences des aliments de l'école nationale supérieure agronomique de Rennes
professeur en technologie alimentaire
Agrocampus - Rennes
département agroalimentaire
65, rue de St Brieuc
35042 Rennes cedex

Patrick Varoquaux
ingénieur agronome, docteur ingénieur en biologie
directeur de recherche à l'Inra
INRA – UMR 408
Domaine Saint-Paul, Site Agroparc
84914 Avignon cedex

Marc Anton : chapitre **3** avec Françoise Nau et Valérie Lechevalier

Alain Baron : chapitre **6** avec Jean-Michel Le Queré et Jean-François Drilleau

Gérard Brulé : **Introduction générale**, chapitre **8** (avec Thomas Croguennec), **9** et **10** (avec Romain Jeantet)

Florence Charles : chapitre **7** (avec Patrick Varoquaux)

Hubert Chiron : chapitre **4** (avec Philippe Roussel)

Thomas Croguennec : chapitre **1** (avec Romain Jeantet et Pierre Schuck), **8** (avec Gérard Brulé), **11** (avec Valérie Lechevalier et Pierre Schuck).

Jean-Francois Drilleau : chapitre **6** avec Alain Baron et Jean-Michel Le Queré

Catherine Guérin : chapitre **2** (avec Jean-Louis Thapon)

Romain Jeantet : chapitre **1** (avec Thomas Croguennec et Pierre Schuck), **9** et **10** (avec Gérard Brulé)

Valérie Lechevalier : chapitre **3** (avec Marc Anton et Françoise Nau), **11** (avec Thomas Croguennec et Pierre Schuck), **12** et **13** (avec Claude Masson).

Jean-Michel Le Queré : chapitre **6** avec Alain Baron et Jean-François Drilleau

Claude Masson : chapitre **12** et **13** (avec Valérie Lechevalier).

Françoise Nau : chapitre **3** avec Marc Anton et Valérie Lechevalier

Ludivine Perrocheau : chapitre **5**

Philippe Roussel : chapitre **4** (avec Hubert Chiron)

Pierre Schuck : chapitre **1** (avec Thomas Croguennec et Romain Jeantet), **11** (avec Thomas Croguennec et Valérie Lechevalier)

Jean-Louis Thapon : chapitre **2** (avec Catherine Guérin)

Patrick Varoquaux : chapitre **7** (avec Florence Charles)

Table des matières

Introduction

Première partie

Biochimie et technologie des produits d'origine animale

Chapitre 1

Du lait aux produits laitiers

Chapitre 2

Du muscle à la viande et aux produits dérivés

Chapitre 3

De l'œuf aux ovoproduits

Deuxième partie

Biochimie et technologie des produits d'origine végétale

Chapitre 4

Du blé au pain et aux pâtes alimentaires

Chapitre 5

De l'orge à la bière

Chapitre 6

Des fruits aux jus de fruits et produits fermentés

Chapitre 7

Des légumes aux produits « 4e gamme »

Troisième partie

Propriétés et technologies des ingrédients

Chapitre 8

Propriétés fonctionnelles des ingrédients

Chapitre 9

Bases physico-chimiques du fractionnement et technologies associées

Chapitre 10

Bioconversion et transformations physico-chimiques

Chapitre 11

Mise en œuvre des techniques séparatives

Quatrième partie

Emballage et conditionnement

Chapitre 12

Emballage

Chapitre 13

Conditionnement

Introduction

La transformation en aliments des matières premières issues de la cueillette, de la chasse, de la pêche puis de l'agriculture et de l'élevage a toujours répondu à un double objectif : assurer la conservation des éléments nutritifs pour en différer la consommation dans l'espace et le temps et élaborer des produits présentant une grande diversité en matière de texture et d'arôme pour satisfaire les besoins sensoriels. Le développement de l'agriculture et de l'élevage a permis une meilleure maîtrise de l'approvisionnement, bien que la fourniture des produits agricoles soit longtemps restée très irrégulière en raison d'aléas climatiques ou sanitaires et du caractère saisonnier de certaines productions. Par ailleurs, le caractère crucial de la stabilisation et/ou transformation de la matière agricole s'est amplifié avec l'exode rural qui s'est traduit par un éloignement des zones de production et des centres de consommation.

L'élaboration d'un certain nombre d'aliments qui constituent toujours la base de notre alimentation date de plusieurs siècles voire millénaires ; c'est le cas entre autres du pain, des fromages ou des vins. Ces produits et tout particulièrement ceux issus de fermentation se sont développés sur la base d'observations empiriques, sans connaissances des matières premières et encore moins des phénomènes impliqués dans leurs transformations. Comme nous l'avons décrit dans l'introduction du premier volume, il a fallu attendre les travaux de Pasteur au XIX[e] siècle pour attribuer aux micro-organismes un rôle prépondérant dans l'évolution et la transformation des produits d'origine agricole.

Les industries agroalimentaires ont amorcé depuis une dizaine d'année une profonde mutation afin de mieux répondre aux exigences qualitatives des consommateurs ; si l'aliment traditionnel est l'aboutissement d'une succession de phénomènes biologiques et physico-chimiques de mieux en mieux connus et maîtrisés, ce n'est pas le cas d'un certain nombre de produits nouveaux imaginés et conçus pour mieux répondre aux attentes du marché. Ces produits résultent de l'assemblage de divers ingrédients (figure 1), dont la maîtrise est un véritable défi pour les techniciens et ingénieurs du secteur.

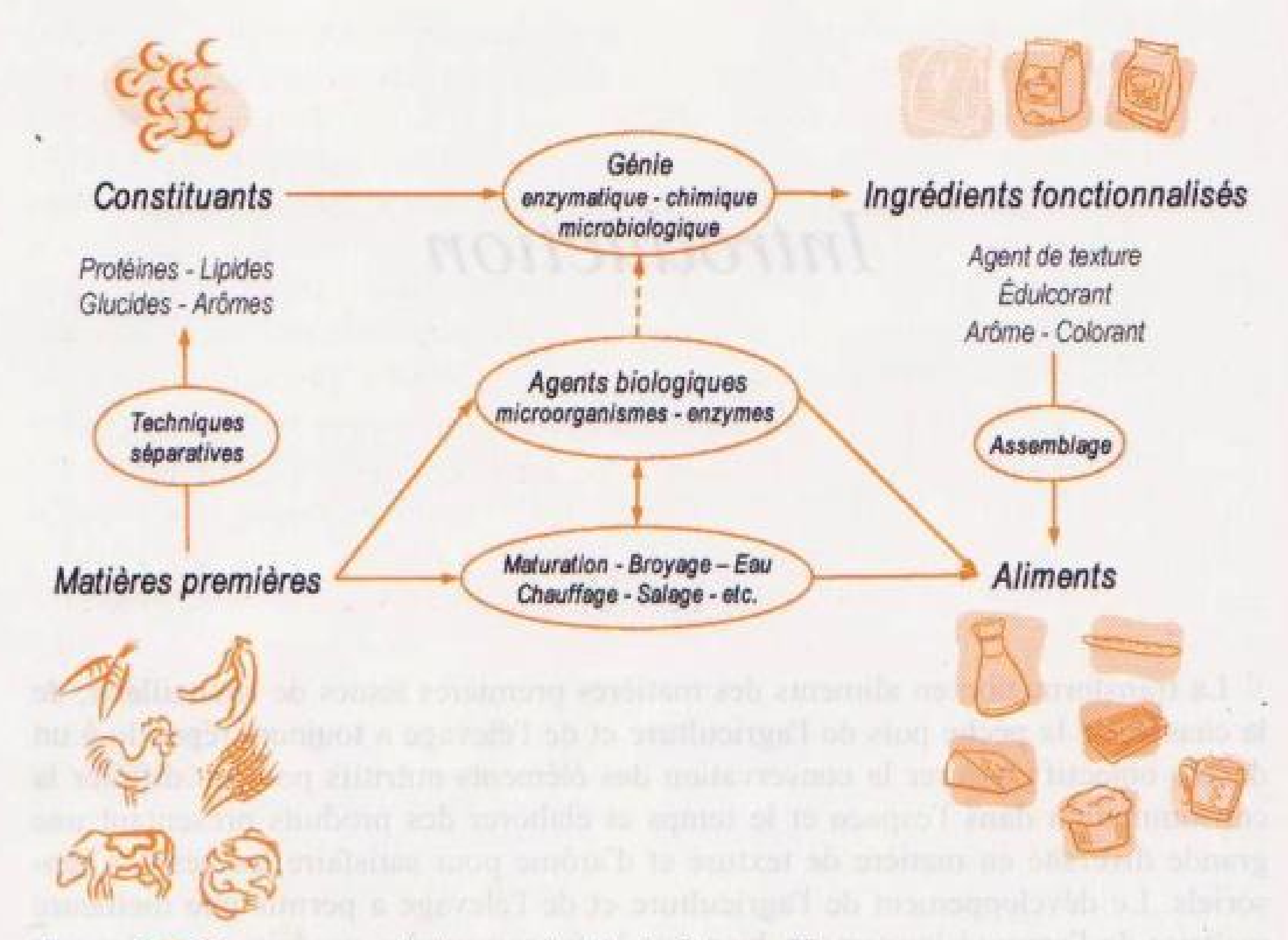


Figure 1 ■ Nouveaux produits et technologie d'assemblage.

De l'empirisme à la technologie raisonnée

Les transformations les plus anciennes (lait en fromage, céréales en pain ou bière, raisin en vins, muscle en viande, etc.) reposent sur des phénomènes biologiques qui pouvaient se dérouler naturellement dans des conditions de teneur en eau et de température définies dans la mesure où les agents biologiques (enzymes et micro-organismes) responsables des transformations ainsi que les substrats réactionnels et facteurs de croissance étaient présents dans les matières premières et/ou dans l'environnement immédiat ; il suffisait de laisser maturer (lait, viande), d'écraser, de broyer et parfois d'hydrater (fruits, céréales) pour que les réactions biologiques puissent se dérouler ; c'est pourquoi ce type de produits a pu se développer sur la seule base d'observations de processus naturels.

Les connaissances acquises depuis la fin du XIXe siècle dans le domaine de la microbiologie et au début du XXe dans le domaine de l'enzymologie ont permis progressivement d'expliquer les phénomènes biologiques impliqués dans l'élaboration d'un certain nombre de produits alimentaires. Sur la base de ces connaissances, l'industrie alimentaire a cherché à maîtriser ces processus plutôt que de les subir, et c'est ainsi qu'est née une industrie des ferments puis des enzymes qui produisent et commercialisent des agents biologiques adaptés à chaque type de transformation. La mise en œuvre de ferments et dans certains cas d'enzymes est devenue indispensable compte tenu des exigences en matière de sécurité alimentaire, qui

impliquent des conditions d'hygiène de plus en plus strictes de la production à la transformation et des traitements technologiques permettant de s'affranchir de la présence éventuelle de micro-organismes pathogènes (microfiltration, traitements thermiques). Cette évolution se traduit par un appauvrissement du potentiel biologique endogène, qu'il est nécessaire de reconstituer par l'apport de ferments et d'enzymes. La reconstitution des écosystèmes microbiens par assemblage de flores exogènes nécessite en premier lieu une identification des flores endogènes et de leur rôle dans la typicité des aliments ; les progrès réalisés dans le domaine de la biologie moléculaire devraient permettre une avancée significative dans ce domaine.

Au cours des trente dernières années, de nombreuses équipes se sont consacrées à la science des aliments, ce qui a permis de mieux connaître la composition des diverses matières premières et d'élucider les mécanismes biologiques et physico-chimiques impliqués dans l'élaboration de la texture, des saveurs et des arômes ; ces travaux ont permis à l'industrie alimentaire d'accéder à une meilleure identification des leviers technologiques déterminants dans la construction de la qualité, de sortir de l'empirisme et de raisonner la technologie. Nous développerons dans les deux premières parties de ce livre les fondements biologiques et physico-chimiques de l'élaboration des principaux aliments traditionnels d'origine animale et végétale.

De la conception de l'aliment à la technologie d'assemblage

Les exigences qualitatives des consommateurs sont de plus en plus précises et segmentées. Comme nous l'avons décrit dans le premier volume, l'aliment doit présenter une sécurité absolue (absence de pathogènes, de toxines, de résidus, de contaminants), avoir un profil nutritionnel le plus proche possible de celui recommandé par les nutritionnistes, satisfaire les besoins sensoriels, intégrer de la praticité (facilité de stockage et de mise en œuvre), véhiculer des valeurs sociétales (commerce équitable, protection de l'environnement, bien être des animaux) en restant à un prix accessible. Ces attentes du marché sont identifiées par les services marketing de l'industrie agroalimentaire pour des cibles consommateurs définies, dont les besoins dépendent de nombreux facteurs (sexe, âge, activité, état de santé, troubles métaboliques, effet de mode, etc.). Ces services identifient avec les spécialistes de la nutrition et de la santé le type de nutriments et de micro-éléments (minéraux, vitamines) à assembler et définissent la structure, les caractéristiques organoleptiques et la praticité de l'aliment en s'appuyant sur des études consommateurs. De la conception à la réalisation, il y a un pas parfois difficile à franchir car l'aliment est un système complexe et thermodynamiquement instable, qui peut être défini par une phase continue le plus souvent de nature aqueuse, une matrice tridimensionnelle de nature protéique et/ou polysaccharidique et des éléments dispersés (gaz, globules gras, solides) ; l'objectif des technologues est de stabiliser ce système sur toute la période de commercialisation en tenant compte des contraintes mécaniques (transport) et thermiques (réfrigération, congélation, décongélation) qu'il subit.

Les progrès réalisés ces dernières années en science de l'aliment ont permis de mieux comprendre le rôle déterminant des différents constituants biologiques et

tout particulièrement de leur structure native ou modifiée par les traitements technologiques dans l'élaboration de la texture, la thermodynamique des systèmes dispersés et le rôle des interfaces. Ces connaissances permettent de mieux comprendre et de maîtriser l'instabilité des aliments par des procédés technologiques ou à l'aide d'ingrédients fonctionnels, comme nous l'avons décrit dans le premier volume ; l'industrie dispose en effet d'une palette très importante d'ingrédients fonctionnels qui permettent de créer de la texture et de stabiliser des systèmes multiphasiques complexes. Il est ainsi possible de créer par assemblage de nouveaux aliments répondant aux exigences qualitatives du marché.

La troisième partie de ce livre sera donc consacrée aux bases physico-chimiques de la fonctionnalité et aux technologies séparatives mises en œuvre dans l'élaboration des ingrédients fonctionnels.

De la nécessité de l'emballage et du conditionnement

Aujourd'hui, la qualité des aliments ne se limite pas à leurs caractéristiques (sensorielles, etc.) propres, mais suppose qu'ils puissent être transportés sur de grande distance, stockés, distribués, et enfin disposer d'une durée de vie suffisante chez les consommateurs ; de là est né le besoin de protection et de conservation du produit par l'emballage, qui est donc un objet qui répond à des fonctions précises en terme de conservation des produits alimentaires. C'est en quelque sorte le dernier maillon de la chaîne de fabrication du produit. Il est essentiel et dorénavant indissociable du produit alimentaire lui-même. Il est généralement associé à un conditionnement, c'est-à-dire à des opérations qui permettent de stabiliser et présenter le produit. Ces éléments seront abordés dans la quatrième et dernière partie de ce livre.

Première partie

Biochimie et technologie des produits d'origine animale

1

Du lait aux produits laitiers

Sécrété dans les glandes mammaires des mammifères, le lait est un aliment complet destiné à fournir au nouveau-né les éléments énergétiques, structuraux, immunologiques, etc. dont il a besoin dans les premiers stades de la vie. D'un point de vue physico-chimique, le lait est complexe en raison de son organisation, des interactions existant entre ses divers constituants et de la variabilité de sa composition qui dépend de l'espèce, de la race, du régime alimentaire et de la période de lactation. C'est un système dynamique en raison de la présence d'enzymes endogènes et de micro-organismes, et de l'existence d'équilibres ioniques qui sont dépendants des conditions de pH et de température et qui conditionnent la stabilité des éléments dispersés. Ces évolutions physiques, physico-chimiques ou biologiques conduisent à une instabilité du lait, qui peut être exploitée lors de sa transformation en une diversité de produits laitiers tels que les produits fermentés, les fromages, les crèmes, les beurres, etc.

1. *Biochimie et physico-chimie du lait*

Le lait est une émulsion naturelle. La matière grasse, qui représente environ 4 % de la composition globale du lait de vache (p/p), y est présente sous forme de globules gras dispersés dans le lait écrémé.

La phase non grasse du lait de vache (lait écrémé) est constituée majoritairement d'eau (87 % (p/p) de la composition globale) dans laquelle sont dispersés ou solubilisés :

- du lactose (4,8 % à 5 % (p/p) de la composition globale) ;
- des protéines (3,2 à 3,5 % (p/p)) ;
- de l'azote non protéique (NPN) constitué d'urée, d'acides aminés et de peptides qui représentent environ 5 % de la fraction azotée du lait ;
- des ions inorganiques (calcium, phosphate, chlorure, potassium, sodium) et des acides organiques (majoritairement le citrate dans le lait frais) ;
- des vitamines hydrosolubles.

1.1. Matière grasse laitière

La teneur en matière grasse des laits de vache varie entre environ 3,3 et 4,7 % (p/p) suivant la race, le stade de lactation, la saison, etc. La matière grasse du lait est majoritairement présente sous forme de globules gras de diamètre compris entre 0,2 et 15 µm. Environ 75 % des globules gras ont une taille inférieure à 1 µm, mais représentent moins de 10 % du volume total de matière grasse laitière. De même, les globules gras dont la taille est supérieure à 8 µm sont très peu nombreux et représente moins de 3 % de ce volume. Ainsi, près de 90 % de la matière grasse laitière se trouve incluse dans des globules gras dont la taille varie de 1 à 8 µm. Le diamètre moyen des globules gras est d'environ 4 µm. Le cœur des globules gras contient la presque totalité des lipides neutres tandis que la membrane des globules gras est constituée de lipides complexes, mais également de protéines. Leurs propriétés amphiphiles facilitent la création d'interfaces et permettent de maintenir la matière grasse à l'état dispersé (figure 2).

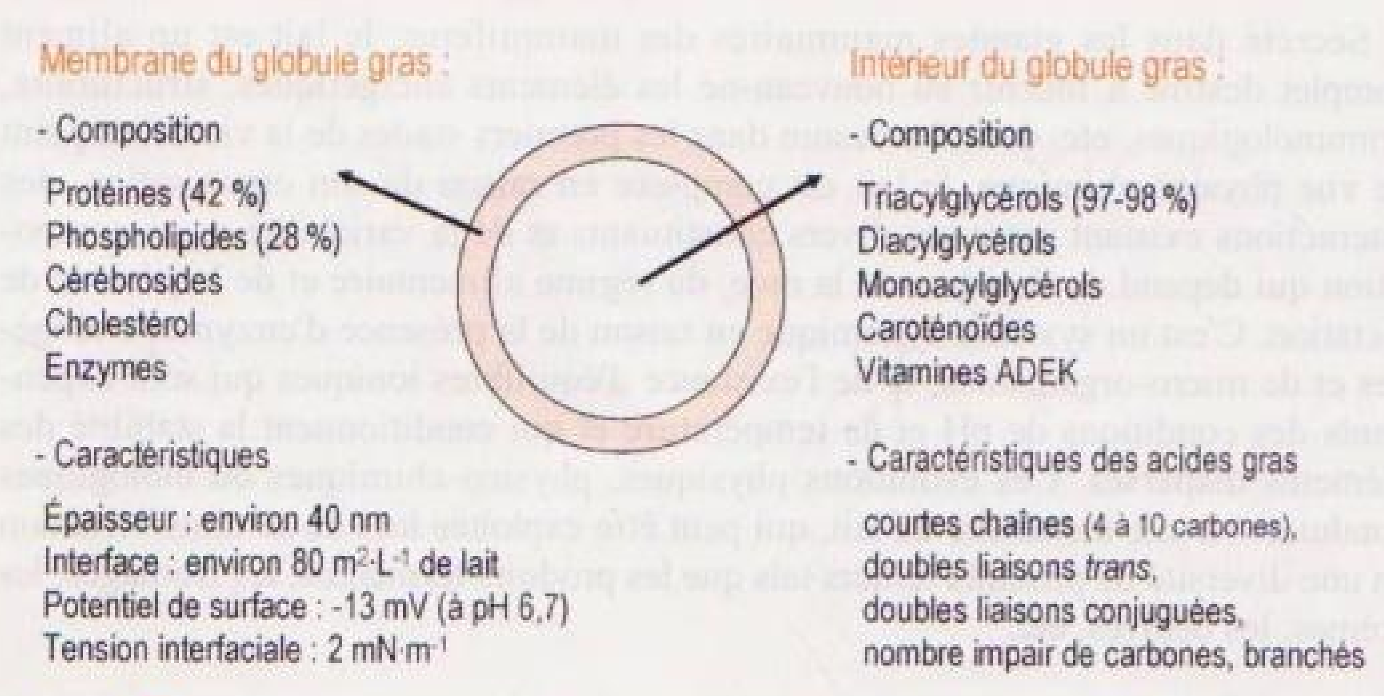


Figure 2 ■ Composition et principales caractéristiques des globules gras du lait.

1.1.1. Composition et caractéristiques de la matière grasse laitière

La composition lipidique moyenne du lait de vache est donnée dans le tableau 1. Les triacylglycérols représentent environ 97,5 % des lipides totaux. Les diacylglycérols, les monoacylglycérols et les acides gras libres sont naturellement présents en faible quantité mais leur proportion peut augmenter en cas de lipolyse. Les nombreux autres composés (cholestérol, hormones stéroïdiennes, vitamines, arômes et substrats d'arômes, etc.), bien que mineurs quantitativement, ont un rôle nutritionnel et organoleptique déterminant.

Les triacylglycérols du lait sont constitués à partir de plus de 400 acides gras différents, ce qui fait de la matière grasse laitière une source lipidique très complexe, chacun des acides gras pouvant être estérifié à une des trois fonctions hydroxyles du glycérol (tableau 2). Cependant, seul une douzaine d'acides gras sont présents à plus de 1 % (mol/mol). Les acides gras sont soit synthétisés au niveau de la mamelle, soit prélevés dans la circulation sanguine (origine adipeuse ou alimentaire). Ainsi

la matière grasse laitière est variable suivant la saison, l'alimentation des vaches et le niveau énergétique de la ration alimentaire qui peut conditionner le rapport de la synthèse *de novo* par rapport au prélèvement plasmatique.

Tableau 1 ■ Composition lipidique moyenne du lait de vache (d'après Christie, 1995).

Classes de lipides	Pourcentage des lipides totaux
Triacylglycérols	97,5
Diacylglycérols	0,36
Monoacylglycérols	0,027
Acides gras libres	0,027
Cholestérol	0,31
Hydrocarbures	Traces
Caroténoïdes	0,008
Phospholipides	0,6

Tableau 2 ■ Composition en acides gras du lait et distribution sur les trois positions du glycérol (adapté d'après Christie, 1995).

Acides gras		% mol	Répartition sur le glycérol (% mol)			Point de fusion (°C)
			Sn1	Sn2	Sn3	
Butyrique	4:0	4,8	–	–	35,4	– 7,9
Caproïque	6:0	2,2	–	0,9	12,9	– 1,5
Caprylique	8:0	1,3	1,4	0,7	3,6	+ 16,5
Caprique	10:0	2,9	1,9	3,0	6,2	+ 31,4
Laurique	12:0	3,3	4,9	6,2	0,6	+ 43,6
Myristique	14:0	10,8	9,7	17,5	6,4	+ 53,8
Palmitique	16:0	26,1	34,0	32,3	5,4	+ 62,6
Palmitoléique	16:1	1,4	2,8	3,6	1,4	– 0,5
Stéarique	18:0	10,8	10,3	9,5	1,2	+ 69,3
Oléique	18:1	24,1	30,0	18,9	23,1	+ 14,0
Linoléique	18:2	2,4	1,7	2,5	2,3	– 5,0
Linolénique	18:3	1,1	–	–	–	– 11,0

La matière grasse laitière se caractérise par :

– une forte proportion en acides gras courtes chaînes (chaînes carbonées de 4 à 10 carbones) synthétisés à partir de l'acétate et du β-hydroxybutyrate produits

par les micro-organismes lors de la dégradation de la cellulose dans le rumen. Ces acides gras sont préférentiellement estérifiés en position Sn3 des triacylglycérols. Ils sont facilement libérés par l'action des lipases naturelles du lait ou microbiennes et participent activement à l'arôme des produits laitiers ;

- une forte proportion d'acides gras saturés (à 14, 16 et 18 atomes de carbone) dont une partie provient de l'hydrogénation dans le rumen des acides gras insaturés d'origine alimentaire ;
- des acides gras insaturés qui proviennent soit de l'alimentation, soit de la désaturation des acides gras saturés par la Δ9-désaturase dans les cellules épithéliales ;
- des acides gras insaturés dont les doubles liaisons sont en configuration *trans* et/ou conjugués qui proviennent de l'hydrogénation des acides gras contenus dans la ration alimentaire par les micro-organismes ;
- la présence d'acides gras d'origine bactérienne (acides gras à nombre impair de carbones, acides gras branchés).

Par la longueur de leur chaîne carbonée, leur insaturation ou encore leur position sur la molécule de glycérol, les acides gras conditionnent les propriétés physiques de la matière grasse (point de fusion, propriétés de cristallisation). Ainsi la matière grasse laitière se caractérise par un profil de fusion très large qui varie au cours de la saison, principalement en fonction de l'alimentation. À – 30 °C, la matière grasse laitière est entièrement solide, à + 40 °C elle est entièrement liquide. Entre ces deux températures il y a coexistence de matière grasse liquide principalement localisée au cœur du globule et de matière grasse solide à sa périphérie.

1.1.2. Membrane des globules gras

La membrane du globule gras compte pour 1 à 2 % (p/p) des lipides totaux. Elle est composée principalement de protéines (butyrophiline, nombreuses enzymes dont principalement la xanthine oxydase, etc.), de phospholipides (phosphatidyléthanolamine, phosphatidylinositol, phosphatidylsérine, phosphatidylcholine, sphingomyéline), de lipides neutres (triacylglycérol) et dans une proportion moindre d'autres constituants lipidiques (cholestérol, cérébrosides, β-carotène, etc.). Sa structure est étroitement liée aux mécanismes impliqués dans la formation des gouttelettes lipidiques au sein des cellules sécrétrices et à leur mode d'expulsion. Elle serait constituée d'une couche interne de protéines et de lipides polaires issus du réticulum endoplasmique permettant à la fraction lipidique d'être dispersée sous forme de gouttelettes lipidiques dans le cytoplasme des cellules sécrétrices. Au moment de la sécrétion, ces gouttelettes lipidiques s'entourent d'une membrane en bicouche provenant de la membrane plasmique des cellules sécrétrices (figure 3). Une fraction du cytoplasme issue des cellules sécrétrices peut être emprisonnée au sein de la membrane des globules gras. L'épaisseur de la membrane des globules gras est en moyenne proche de 10 nm.

De par la composition de la membrane des globules gras, la tension interfaciale entre la phase grasse et le lait écrémé est faible, de l'ordre de 2 $mN{\cdot}m^{-1}$, ce qui la rend très fragile vis-à-vis des perturbations locales. La surface cumulée des membranes des globules gras est d'environ 80 $m^2{\cdot}L^{-1}$ de lait frais mais celle-ci peut être

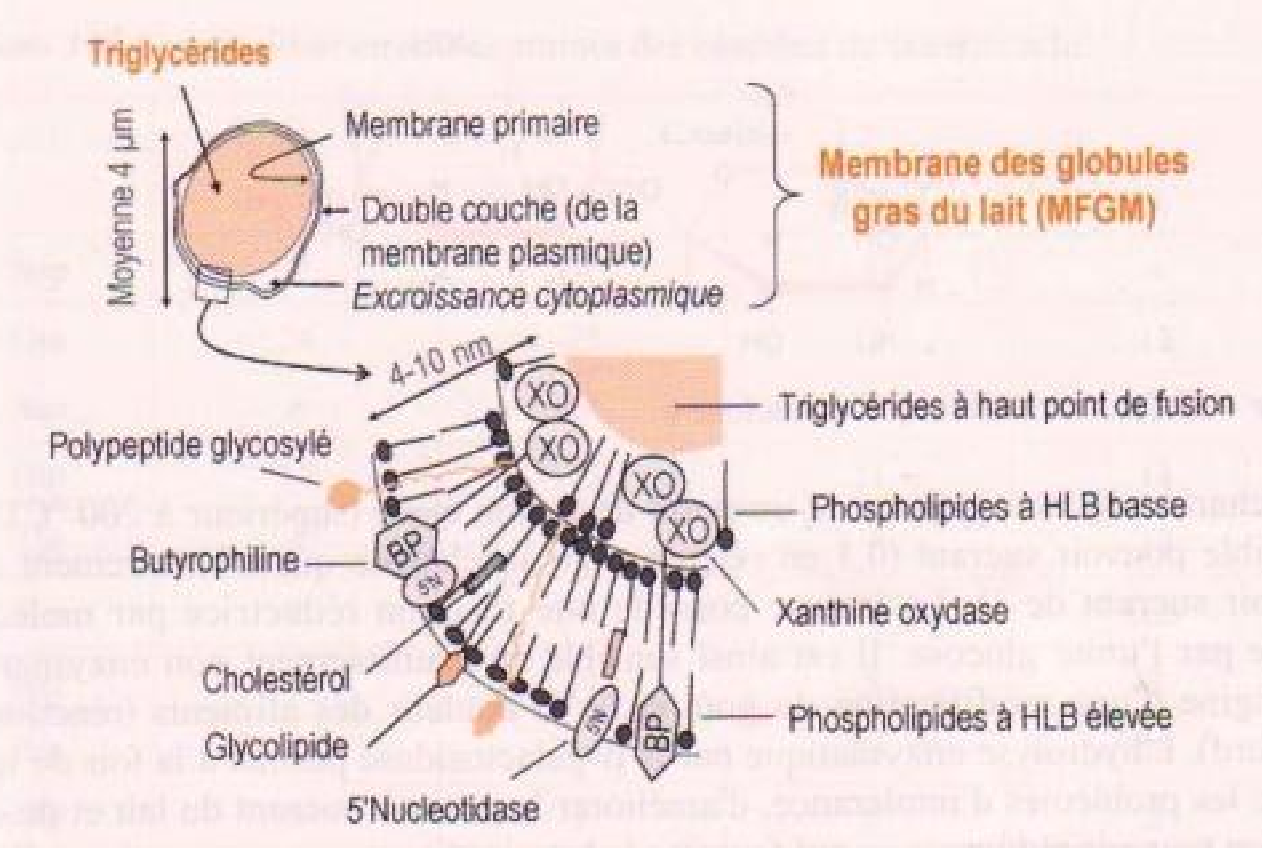


Figure 3 ■ Schématisation de la structure de la membrane des globules gras natifs (d'après Michalski *et al.*, 2001).

considérablement augmentée lors des traitements qui lui sont appliqués (agitation, homogénéisation, etc.). Le potentiel électrostatique de surface des globules gras, proche de – 13 mV au pH naturel du lait, participe à sa stabilité en limitant les risques de floculation et de coalescence.

1.2. Glucides

Le lait contient des glucides libres dont le principal est le lactose et des glucides associés aux protéines. La concentration en lactose dans les laits de mammifère est inversement proportionnelle à la teneur en minéraux avec lesquels il participe à l'équilibre de la pression osmotique. La teneur en lactose dans le lait de vache varie de 4,8 à 5 % (p/p) et représente 97 % des glucides totaux. Le lactose est un disaccharide constitué d'une unité galactose et d'une unité glucose, le β-D-galactopyranosyl (1-4) D-glucopyranose, α ou β (figure 4). Sa synthèse s'effectue à partir du glucose sanguin en présence de la galactosyl-transférase et d'α-lactalbumine. Pour son assimilation, le lactose doit être hydrolysé par la β-galactosidase (lactase) sécrétée par les entérocytes de l'intestin grêle. La faible vitesse d'hydrolyse du lactose assure aux jeunes mammifères une fourniture d'énergie prolongée et un taux de glucose sanguin constant entre les tétées. Les individus déficients en lactase ne peuvent digérer le lactose du lait qui, une fois ingéré, provoque des troubles intestinaux (diarrhées, ballonnement). Bien que faiblement synthétisés par les jeunes mammifères, le galactose et son dérivé aminé galactosamine participent à la constitution de plusieurs glycoprotéines et/ou glycolipides.

La solubilité du lactose est faible (environ 18 % à 20 °C) en comparaison à d'autres glucides : il peut donc cristalliser lorsqu'il est concentré dans la phase aqueuse du lait (évaporation, congélation, stockage à l'état de poudre). Pour un

Figure 4 ■ Structure chimique du lactose α.

disaccharide, le lactose possède un point de fusion élevé (supérieur à 200 °C). Il a un faible pouvoir sucrant (0,3 en référence au saccharose qui arbitrairement a un pouvoir sucrant de 1). Le lactose possède une fonction réductrice par molécule, portée par l'unité glucose. Il est ainsi sensible au brunissement non enzymatique à l'origine d'une modification du goût et de la couleur des aliments (réaction de Maillard). L'hydrolyse enzymatique par la β-galactosidase permet à la fois de lutter contre les problèmes d'intolérance, d'améliorer le pouvoir sucrant du lait et de doubler son pouvoir réducteur ce qui favorise le brunissement non enzymatique. Enfin, le lactose constitue la matière carbonée principale pour le développement des bactéries lactiques. La transformation du lactose en acide lactique entraîne une baisse de pH du lait et la déstabilisation de ces éléments dispersés, à l'origine de la fabrication des produits laitiers fermentés.

1.3. Protéines

Le lait de vache contient 3,2 à 3,5 % (p/p) de protéines réparties en deux fractions distinctes :

– les caséines qui précipitent à pH 4,6, représentent 80 % des protéines totales ;
– les protéines sériques, solubles à pH 4,6, représentent 20 % des protéines totales.

Cette propriété de précipitation différentielle est exploitée industriellement pour la préparation de caséines acides. Les caséines sont organisées en micelles avec la participation d'éléments minéraux colloïdaux majoritairement sous forme de phosphate de calcium comme nous le verrons ultérieurement.

1.3.1. Caséines

Les caséines (α_{s1}, α_{s2}, β, κ), présentes dans le lait de vache dans les proportions 37, 10, 35 et 12 % (p/p), sont synthétisées à partir de 4 gènes distincts. La diversité protéique est accrue en raison de la présence de nombreux variants issus du polymorphisme génétique et des différences de modifications post-traductionnelles (phosphorylation, glycosylation).

Les caséines sont de petites protéines dont le poids moléculaire varie entre 19 et 25 kDa. Elles possèdent une forte proportion d'acides aminés apolaires et d'acides aminés chargés distribués de manière non uniforme (tableau 3), leur conférant des propriétés amphiphiles.

Tableau 3 ■ Composition en acides aminés des caséines du lait de vache.

	Caséines			
	α_{s1} (B)	α_{s2} (A)	β (A)	κ
Asp	7	4	4	4
Glu	24	25	18	13
Asn	8	14	5	7
Gln	15	15	21	14
Thr	5	15	9	14
Ser	8	6	11	12
SerP	8	11	5	1
Pro	17	10	35	20
Gly	9	2	5	2
Ala	9	8	5	15
Val	11	14	19	11
Ile	11	11	10	13
Leu	17	13	22	8
Phe	8	6	9	4
Tyr	10	12	4	9
Met	5	4	6	2
Cys	0	0	0	0 ou 2
Cystine/2	0	2	0	2 ou 0
Lys	14	24	11	9
His	5	3	5	3
Arg	6	6	4	5
Trp	2	2	1	1
Total	199	207	209	169

La quantité élevée de résidus proline entraîne un faible niveau d'organisation secondaire (en hélices α ou feuillets β) des caséines. Ainsi, les caséines résistent aux traitements thermiques intenses mais sont très sensibles à l'action des enzymes, en particulier digestives (pepsine et trypsine). La caséine β est également sensible à la plasmine, protéase endogène du lait localisée en surface des micelles de caséine. L'hydrolyse de la caséine β par la plasmine génère des peptides hydrophiles issus des fragments N-terminaux de la caséine β et des caséines γ hydrophobes possédant des propriétés de précipitation à pH 4,6 identiques aux autres caséines.

Les caséines sont riches en lysine, un acide aminé essentiel qui en présence d'un sucre réducteur est fortement impliqué dans les réactions de brunissement non enzymatique. Cependant, la prépondérance d'acides aminés acides confère aux caséines un point isoélectrique proche de 4,6 à la force ionique du lait.

Le point isoélectrique des caséines est étroitement lié à la teneur en phosphosérines. Les caséines, à l'exception de la caséine κ, contiennent une forte proportion de sérines phosphorylées majoritairement organisées en clusters (succession de phosphosérines dans la structure primaire). La caséine α_{s1} possède majoritairement 8 phosphosérines. La caséine α_{s2} renferme en proportion quasi équivalente de 10 à 13 phosphosérines. La caséine β contient majoritairement 5 phosphosérines, tandis que la caséine κ n'en possède qu'une seule. En contre partie la caséine κ est la seule protéine à être parfois glycosylée. Les phosphosérines organisées en cluster possèdent une forte affinité pour les cations divalents ou polyvalents, qui selon leur type peuvent insolubiliser les caséines. La sensibilité au calcium des caséines croît avec le taux de phosphorylation. La caséine κ ne précipite pas en présence de calcium.

Les caséines possèdent peu d'acides aminés soufrés ce qui limite leur valeur nutritionnelle. Seules les caséines α_{s2} et κ possèdent chacune 2 cystéines impliquées dans des ponts disulfures intermoléculaires. Alors que la caséine α_{s2} est majoritairement présente sous forme d'homo dimères covalents, la caséine κ forme des polymères pouvant aller jusqu'à 15 unités de caséines κ engageant la totalité des cystéines dans des ponts disulfures intermoléculaires.

1.3.2. Structure de la micelle de caséine

Les micelles de caséines sont des particules de forme sphérique formées par l'association des différentes caséines (α_{s1}, α_{s2}, β et κ), de quelques fragments peptidiques issus de la protéolyse de la caséine β par la plasmine (caséine γ) et de composants salins dont les principaux sont le calcium et le phosphate. Le tableau 4 reprend la composition moyenne des micelles de caséines.

Tableau 4 ■ Composition moyenne de la micelle de caséines en g/100 g.

Caséines		**Composants salins**	
α_{s1}	33	Calcium	2,9
α_{s2}	11	Magnésium	0,2
β	33	Phosphate inorganique	4,3
κ	11	Citrate	0,5
γ	4		
Total caséines	92	Total composants salins	8,0

La composition des micelles de caséines varie légèrement en fonction de leur diamètre, qui oscille entre 50 et 600 nm pour un diamètre moyen de l'ordre de 150 nm. Quelle que soit la taille des micelles, la proportion en caséine α_{s1} et α_{s2} varie peu tandis que le rapport des caséines β sur κ augmente avec la taille des

micelles. L'organisation de la micelle, c'est-à-dire l'agencement et la répartition des différents constituants ainsi que leurs modes d'associations, est toujours hypothétique. Les parties non chargées des caséines formeraient des structures rigides maintenues par des associations hydrophobes et des liaisons hydrogènes ; le phosphate de calcium colloïdal, sous forme de nanoclusters (taille de l'ordre du nanomètre), agirait comme un ciment en écrantant les charges négatives portées par les clusters de phosphosérines et permettrait l'association des caséines en micelles. La caséine κ serait répartie en paquets inhomogènes presque exclusivement localisés à la surface des micelles. En effet, dépourvue de cluster de phosphosérines, elle reste associée par son extrémité N-terminale hydrophobe à la micelle de caséines mais est incapable d'en poursuivre la croissance. Sa partie C-terminale hydrophile et chargée forme des protubérances d'environ 5 à 10 nm projetées dans la phase solvante conférant un aspect chevelu à la micelle.

Certaines caractéristiques des micelles de caséines sont données dans le *tableau 5*. Leur composition et propriétés physico-chimiques sont très dépendantes des conditions physico-chimiques de la phase solvante.

Tableau 5 ■ Caractéristiques physico-chimiques moyennes des micelles de caséines à 20 °C et pH 6,7 (modifié d'après McMahon et Brown, 1984).

Paramètres	**Valeurs**
Diamètre moyen (*nm*)	150
Surface (*cm²*)	$8 \cdot 10^{-10}$
Volume (*mL*)	$2,1 \cdot 10^{-15}$
Densité (hydraté)	1,0632
Hydratation (*g $H_2O.g^{-1}$ de protéines*)	3,7
Voluminosité (*mL.g^{-1} de protéines*)	4,4
Poids moléculaire (hydraté) (*Da*)	$1,3 \cdot 10^{9}$
Poids moléculaire (déshydraté) (*Da*)	$5 \cdot 10^{8}$
Teneur en eau (*%*)	63
Nombre de caséines·micelle^{-1}	$2 \cdot 10^{4}$
Nombre de nanoclusters de phosphate de calcium·micelle^{-1}	$3 \cdot 10^{3}$
Nombre de micelles·L^{-1} de lait	10^{17}-10^{19}
Distance libre moyenne entre les micelles (*nm*)	240
Potentiel Zêta (*mV*)	– 13

1.3.3. Protéines sériques

La fraction des protéines sériques englobe toutes les protéines solubles à pH 4,6. La β-lactoglobuline, l'α-lactalbumine, la bovine sérum albumine, les immunoglobulines, la lactoferrine représentent plus de 90 % des protéines sériques totales.

Ce sont majoritairement des protéines globulaires présentant une grande sensibilité aux traitements thermiques. Elles sont globalement riches en acides aminés soufrés et possèdent des résidus tryptophane leur conférant une excellente valeur nutritionnelle.

La β-lactoglobuline a un poids moléculaire de 18,3 kDa et sa concentration dans le lait de vache varie de 0,2 à 0,4 % (p/p). Sa fonction biologique est toujours inconnue. Il existe plusieurs variants génétiques de la β-lactoglobuline, mais les types A et B sont les plus communs. Sa structure secondaire est essentiellement constituée de feuillets β organisés en deux plans perpendiculaires formant une cavité centrale hydrophobe maintenue en place par deux ponts disulfures et partiellement refermée par une hélice α. La cavité peut accueillir en son sein une molécule hydrophobe de petite taille qui peut être un acide gras, le rétinol ou une molécule aromatique. Par ailleurs, la β-lactoglobuline possède un résidu cystéine libre naturellement enfoui au cœur de la structure protéique, mais qui sous l'effet d'un apport d'énergie (thermique par exemple) est exposé au solvant et peut initier des réactions d'échange intermoléculaire. La β-lactoglobuline a un pH_i de 5,2 et sa structure quaternaire varie en fonction des conditions du pH. Dans les conditions physiologiques (pH 6,8), la β-lactoglobuline est présente essentiellement sous forme de dimères, dans lesquels les monomères sont liés de façon non covalente.

L'α-lactalbumine a un poids moléculaire de 14,1 kDa et un pH_i de 4,5. Sa concentration dans le lait de vache est de 0,1 à 0,15 % (p/p). La structure secondaire de l'α-lactalbumine comprend quatre hélices α et un feuillet β ; sa structure tertiaire est stabilisée par quatre ponts disulfures et la présence d'un ion calcium fixé au niveau d'un site spécifique sur la protéine. L'affinité de l'α-lactalbumine pour le calcium ainsi que sa conformation sont très dépendantes du pH. Une baisse de pH à une valeur inférieure à 4 induit une protonation des groupements carboxyliques impliqués dans la coordination du calcium, ce qui entraîne la libération de ce dernier. La fonction biologique de l'α-lactalbumine intervient dans la régulation de l'activité de la galactosyltransférase, lors de la synthèse du lactose.

La sérum albumine bovine (SAB) est présente dans le lait de vache à une concentration de 0,01 à 0,04 % (p/p). Son poids moléculaire est de 66 kDa et elle a la particularité de posséder 35 résidus cystéines dont 34 sont engagés dans des ponts disulfures intramoléculaires. Elle présente une forme ellipsoïdale dont la surface est constituée des poches hydrophobes permettant la fixation d'acides gras à longues chaînes.

Les immunoglobulines sont présentes dans le lait de vache à une concentration de 0,06 à 0,1 % (p/p). Leur pH_i se situe dans la gamme de pH de 5 à 8. Ce sont des glycoprotéines issues du sang et possédant des propriétés anticorps. Elles sont synthétisées en réponse à la stimulation par des antigènes. Les immunoglobulines sont constituées de deux types de chaînes polypeptidiques, une chaîne légère de poids moléculaire d'environ 28 kDa et une chaîne lourde d'environ 50 à 70 kDa. La structure de base des immunoglobulines, dont le poids moléculaire est proche de 160 kDa, est constituée de quatre sous-unités reliées entre elles par des ponts disulfures. Chacune des sous-unités diffère par la composition en acide aminé de l'extrémité N-terminale des chaînes peptidiques, ce qui leur confère une spécificité immunologique.

La lactoferrine a un poids moléculaire de 75 kDa et un pH_i de 8,5. Sa structure tertiaire est maintenue en place par seize ponts disulfures. Elle possède deux résidus cystéines libres. Une molécule de lactoferrine a la capacité de fixer deux ions fer en présence d'un anion synergique (le carbonate dans les conditions physiologiques). L'interaction est de forte affinité à pH neutre ou basique (stabilisation du fer en milieu basique) mais le fer est rapidement libéré en milieu acide. Sa propriété de chélation du fer confère à la lactoferrine une activité antimicrobienne.

1.4. Minéraux du lait

Bien que mineure dans la composition des laits, la fraction minérale est très importante tant d'un point de vue structural que nutritionnel et technologique. Les nanoclusters de phosphate de calcium, associés aux phosphosérines des caséines α_{s1}, α_{s2} et β, participent à la structure et à la stabilité des micelles de caséines (cf. § 2.2.). En effet, la solubilisation du phosphate de calcium colloïdal en présence d'un complexant du calcium tel que l'EDTA (acide éthylène-diamine-tétraacétique) induit la désintégration de la micelle. Par ailleurs, le lait et ses dérivés constituent le principal apport de calcium et de phosphore dans la ration alimentaire. En technologie fromagère, les caractéristiques rhéologiques des fromages dépendent étroitement de la rétention de ces mêmes éléments dans le caillé. Les concentrations moyennes des principaux éléments minéraux du lait de vache sont indiquées dans le tableau 6.

Tableau 6 ■ Composition minérale du lait de vache (d'après Gaucheron, 2005).

Éléments minéraux	Concentration ($mg{\cdot}kg^{-1}$)	Concentration ($mmol{\cdot}kg^{-1}$)
Calcium	1 043-1 283	26-32
Magnésium	97-146	4-6
Phosphate inorganique	1 805-2 185	19-23
(phosphore total)	*930-992*	*30-32*
Citrate	1 323-2 079	7-11
Sodium	391-644	17-28
Potassium	1 212-1 681	31-43
Chlorure	772-1 207	22-34

Le lait renferme également de nombreux oligoéléments. La concentration en éléments minéraux est peu influencée par l'alimentation bien que des différences aient été observées pour le citrate. En revanche, des variations plus importantes ont été mises en évidence au cours de la lactation ou lors de troubles pathologiques (lait de mammites).

Les éléments minéraux se répartissent différemment entre la phase soluble et la phase colloïdale suivant leurs affinités respectives pour les protéines et les solutés organiques. Les ions monovalents (sodium, chlorure, potassium) se retrou-

vent exclusivement dans la phase soluble du lait tandis que les ions divalents ou polyvalents sont distribués entre les deux phases. Les équilibres minéraux entre la phase colloïdale et la phase soluble sont très complexes car de nombreuses espèces minérales interviennent. Les principaux équilibres minéraux du lait peuvent être schématisés selon la représentation de la *figure 5*.

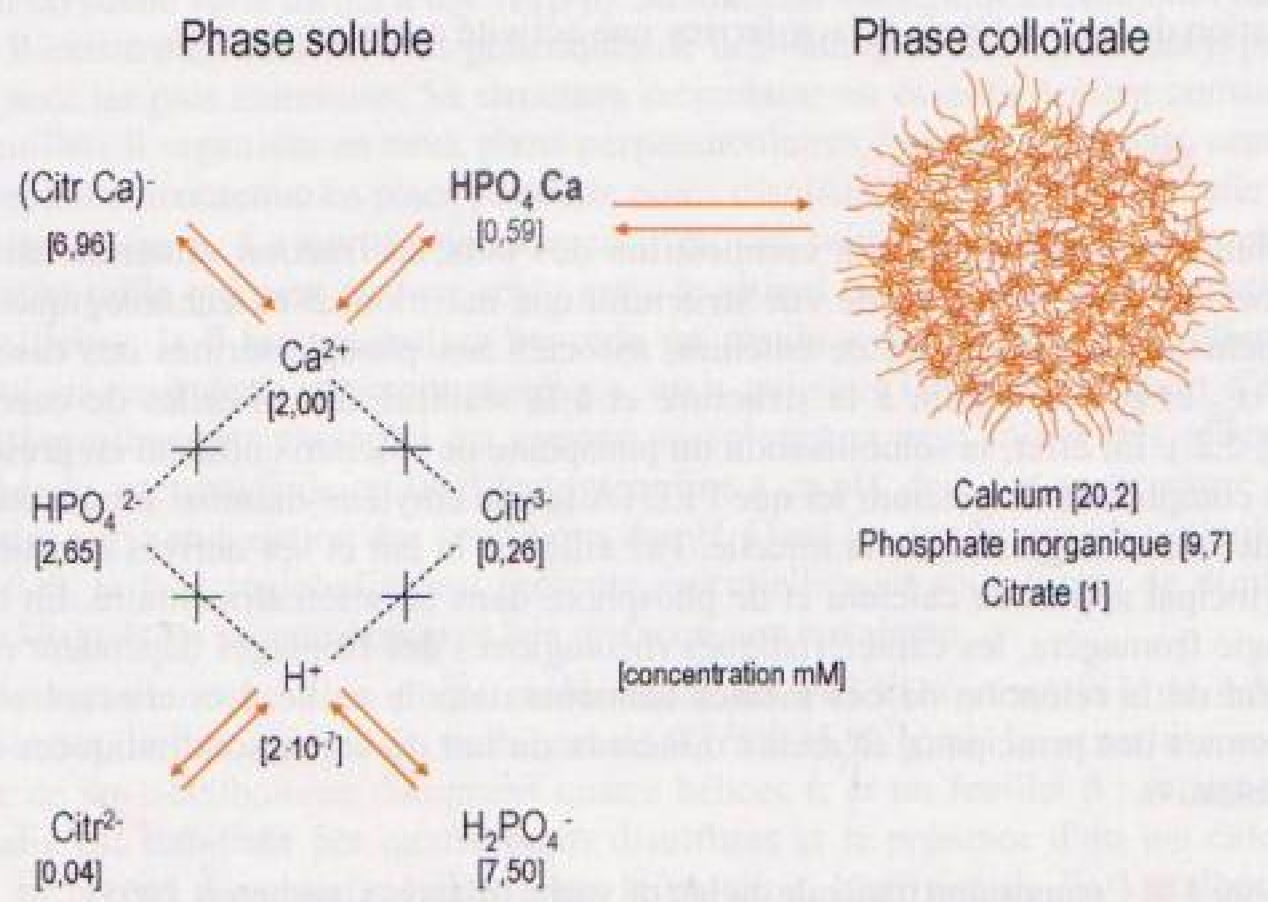


Figure 5 ■ Principaux équilibres minéraux du lait (les concentrations salines indiquées correspondent à celles d'un lait dans les conditions physiologiques).

Au cœur de ces équilibres se trouve le phosphate de calcium qui est très peu soluble et à saturation dans la phase soluble du lait (0,59 mM) sur une large gamme de pH. Dans un lait à pH 6,7, la teneur naturelle en phosphate de calcium est très largement supérieure à sa limite de solubilité. La micelle en augmente « artificiellement » la solubilité en le stabilisant sous forme de nanoclusters de phosphate de calcium constitués d'un corps de phosphate de calcium et d'une enveloppe formée par les parties phosphorylées des caséines α_{s1}, α_{s2} et β. En outre, une fraction du calcium est directement liée aux phosphosérines des caséines. Dans les conditions physiologiques, environ les deux tiers du calcium et la moitié du phosphate inorganique sont associés à la micelle et s'échangent en permanence avec les éléments de la phase soluble. Toute évolution physico-chimique se traduisant par une modification de la concentration des éléments minéraux de la phase soluble du lait entraîne un déplacement des équilibres minéraux et une altération de la structure et de la stabilité des micelles (cf. § 2.2.).

2. Bases biologiques et physico-chimiques de la transformation du lait

2.1. Facteurs de stabilité des globules gras

L'élaboration des produits laitiers nécessite de prendre en compte les caractéristiques de l'émulsion laitière (diamètre et nature de la membrane des globules gras) qui gouvernent sa stabilité physique, biologique et chimique. De manière générale et comme évoqué dans le chapitre 11 du premier volume, les matières grasses à l'état dispersé, notamment laitières, sont naturellement soumises à des instabilités physiques dont les principales sont le crémage, la floculation et la coalescence. Par ailleurs, la matière grasse laitière présente certaines spécificités telles que l'agglutination à froid et la coalescence partielle des globules gras qui s'observe sur une large gamme de température, couvrant les températures de stockage des produits laitiers.

2.1.1. Globules gras natifs

Les globules gras natifs ont une tendance naturelle à remonter en surface (crémage) à une vitesse qui dépend de leur diamètre, de la température qui détermine la viscosité de la phase continue, de la différence de masse volumique des phases continue et dispersée et de l'accélération du système (loi de Stockes, équation 45, premier volume). Ces caractéristiques sont exploitées lors de la préparation des laits et des crèmes de consommation. La floculation et la coalescence des globules gras en augmentant la taille des dispersions accélèrent le crémage. Dans le lait, la floculation ou agglutination des globules gras est essentiellement due aux immunoglobulines de la classe IgM qui conduisent à la formation d'agrégats pouvant atteindre 1 mm (jusqu'à 10^6 globules gras). Ces agrégats se forment au froid et peuvent être dissociés lors d'une agitation ou d'un réchauffage du lait à une température supérieure à 37 °C. Les globules gras de laits traités thermiquement ne sont plus sujets à l'agglutination. La coalescence des globules gras est peu observée dans les émulsions laitières en raison de la barrière électrostatique générée par les charges de la membrane native des globules gras (potentiel de surface de – 13 mV au pH naturel du lait) et la barrière stérique formée par les chaînes glucidiques hydrophiles des glycoprotéines de la membrane. L'affaiblissement des répulsions électrostatiques, par abaissement de pH réduisant le potentiel de surface ou augmentation de la force ionique réduisant l'épaisseur de la double couche électrique, diminue néanmoins la stabilité de l'émulsion en favorisant la floculation et la coalescence des globules gras. Par ailleurs, la coalescence des globules gras peut s'obtenir par une agitation vigoureuse de crèmes (barattage) ou par une succession de cycles de congélation-décongélation qui ont pour conséquences de déstabiliser leur membrane.

La coalescence partielle s'observe quant à elle lorsque des globules gras dont la matière grasse est partiellement cristallisée restent individualisés après contact malgré la perforation de leur membrane par des cristaux lipidiques. La rigidité mécanique assurée par les cristaux de matière grasse localisés à la périphérie des globules gras empêche leur fusion complète. La coalescence partielle est favorisée

par la faible tension interfaciale et la faible viscoélasticité de la membrane des globules gras natifs.

Les matières grasses sont également sujettes à des dégradations biologiques (lipolyse) ou chimiques (oxydation). Dans le lait de vache frais, la lipolyse et l'oxydation de la matière grasse sont pratiquement inexistantes en dépit de la présence naturelle de lipoprotéine lipase (catalyseur de la lipolyse), d'oxygène et de catalyseurs d'oxydation solubilisés dans la phase non grasse. La membrane native du globule gras, bien que relativement fragile du fait de la faible tension interfaciale (environ 2 $mN{\cdot}m^{-1}$) et du rayon de courbure important, constitue une enveloppe protectrice contre ces actions. Cependant, toute altération de la membrane native des globules gras accentue les risques de lipolyse et d'oxydation de la matière grasse laitière.

2.1.2. *Globules gras homogénéisés*

La modification des caractéristiques physico-chimiques de l'émulsion, par exemple lors de l'homogénéisation, a des conséquences sur ses propriétés. L'homogénéisation améliore la stabilité physique de l'émulsion en réduisant le diamètre moyen des globules gras, et par voie de conséquence diminue la vitesse de crémage. La membrane devient plus épaisse et viscoélastique en raison de l'adsorption de micelles de caséines et de protéines sériques au niveau de l'interface nouvellement créée (figure 6), ce qui limite la possibilité de pénétration des cristaux de matière grasse et donc les risques de coalescence partielle des globules gras. À l'inverse, la forte augmentation de l'aire interfaciale et la modification de la nature de la membrane dues à l'homogénéisation altèrent ses propriétés de protection contre l'oxydation et la lipolyse.

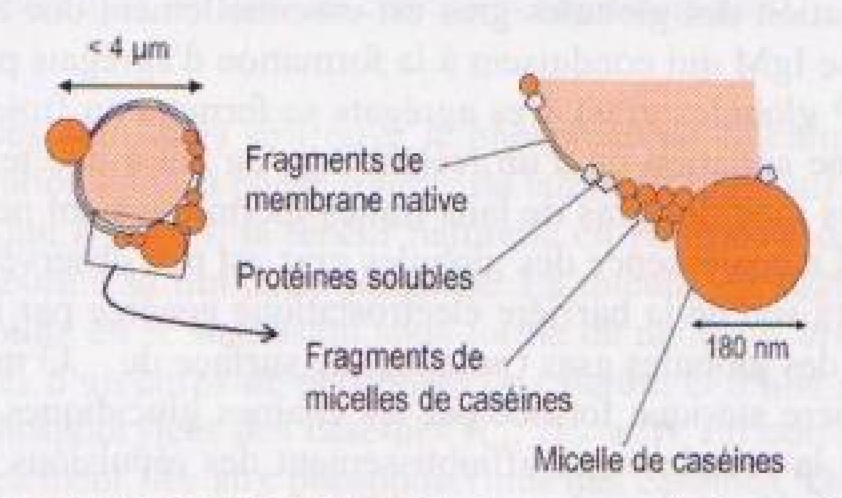


Figure 6 ■ Structure de la membrane des globules gras après homogénéisation.

En outre, l'homogénéisation modifie la couleur de l'émulsion laitière ainsi que la contribution des globules gras à la formation du coagulum (fromages, yaourts). Les globules gras natifs n'ont pas la capacité de participer à la formation du réseau de nature protéique. De plus si le diamètre des globules gras est supérieur à 1 µm, ils auraient même tendance à en gêner l'organisation. À l'inverse, les globules gras homogénéisés sont impliqués dans la formation du réseau protéique par l'intermédiaire des micelles de caséines incorporées à l'interface créée lors de l'homogénéisation. Dans les produits allégés en matière grasse, l'homogénéisation peut-être utilisée pour augmenter la viscosité des émulsions laitières en favorisant la floculation

des globules gras en agrégats linéaires. L'homogénéisation induit également une augmentation de la tension interfaciale entre la phase lipidique et la phase aqueuse qui, associée à une réduction de taille des globules gras, rend l'interface plus résistante au traitement mécanique et à l'inversion de phase. Une plus grande stabilité des globules gras consécutive à des modifications de l'interface pourra avoir des conséquences néfastes sur les caractéristiques rhéologiques et sensorielles des fromages ainsi que sur leurs propriétés culinaires (propriétés de fonte altérées après homogénéisation).

2.2. Facteurs de stabilité des protéines

Les micelles de caséines et les protéines sériques résistent différemment aux évolutions physico-chimiques et traitements technologiques appliqués au lait, au regard des mécanismes spécifiques impliqués dans leur stabilité structurale. Le maintien de l'organisation de la structure micellaire repose notamment sur le phosphate de calcium colloïdal, qui a un rôle de ciment en associant les caséines entre elles. D'autre part, la partie C-terminale de la caséine κ formant des protubérances à la surface des micelles induit une gêne électrostatique, hydrique et stérique s'opposant à l'association des micelles entre elles. Nombreux sont les traitements technologiques qui en modifiant les caractéristiques physico-chimiques de la surface des micelles de caséines en altèrent la stabilité. L'influence des principaux facteurs physico-chimiques sur la structure et la stabilité des micelles de caséines est indiquée sur la figure 7.

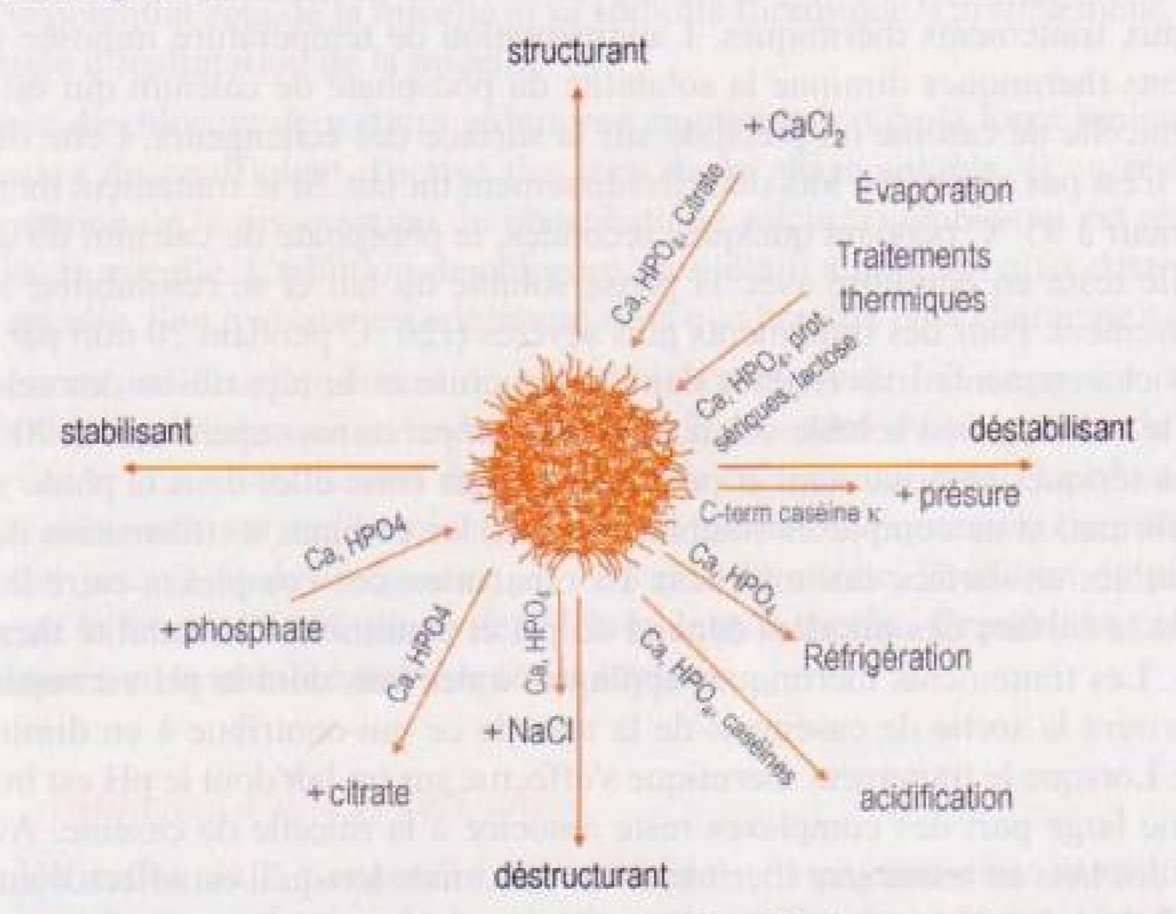


Figure 7 ■ Influence des principaux facteurs physico-chimiques sur la structure et la stabilité des micelles de caséines (adapté d'après Gaucheron, 2005).

La stabilité de la structure et de l'état d'association des protéines sériques est quant à elle gouvernée par un ensemble de liaisons de faible énergie (liaisons

hydrogène, associations hydrophobes, liaisons électrostatiques, ponts salins) et de liaisons covalentes (ponts disulfures).

2.2.1. *Influence de la température*

La température agit à la fois sur la solubilité du phosphate de calcium (sel à solubilité inverse) et sur l'état d'association des protéines laitières. Ainsi, la réfrigération et les traitements thermiques appliqués au lait en modifient l'aptitude technologique mais pour des raisons différentes.

La réfrigération du lait (4 °C) s'accompagne de la solubilisation réversible d'une partie du phosphate de calcium colloïdal (environ 10 %). De même, la solubilisation de la caséine β depuis l'édifice micellaire intervient à cette température, par diminution des interactions hydrophobes ; une fois au sein de la phase soluble, elle peut être hydrolysée par la plasmine (enzyme endogène du lait), ce qui conduit à une baisse de rendement fromager (cf. § 3.4.). Après retour à la température initiale, le phosphate de calcium, la caséine β et/ou les fragments hydrophobes résultants de son hydrolyse par la plasmine retournent vers les micelles et stabilisent ces dernières vis-à-vis de l'action de la chymosine. Il est vraisemblable que la caséine β, majoritairement présente au cœur des micelles natives de grande taille, se dirige aléatoirement sur l'ensemble des micelles et pas nécessairement au cœur des micelles d'origine lors du réchauffage d'un lait réfrigéré. Sa présence en surface des micelles pourrait masquer le site d'action de la chymosine sur la caséine κ.

Contrairement aux protéines sériques, les micelles de caséines sont relativement stables aux traitements thermiques. L'augmentation de température imposée par les traitements thermiques diminue la solubilité du phosphate de calcium qui est dirigé vers la micelle de caséine ou précipite sur la surface des échangeurs. Cette dernière fraction n'est pas récupérée lors du refroidissement du lait. Si le traitement thermique est inférieur à 95 °C pendant quelques secondes, le phosphate de calcium dirigé vers la micelle reste en équilibre avec la phase soluble du lait et se resolubilise lors du refroidissement. Pour des traitements plus sévères (120 °C pendant 20 min par exemple), des changements irréversibles dans la structure et la répartition des sels entre la micelle et la fraction soluble ont lieu. À des températures supérieures à 70 °C, les protéines sériques se dénaturent et peuvent interagir entre elles dans la phase soluble du lait (formation de complexes solubles) ou avec les caséines κ (formation de complexes stables en surface des micelles). La répartition des complexes entre la phase soluble et la surface des micelles dépend du pH et conditionne la stabilité thermique des laits. Les traitements thermiques appliqués à des laits dont le pH est supérieur à 6,7 favorisent la sortie de caséine κ de la micelle ce qui contribue à en diminuer la stabilité. Lorsque le traitement thermique s'effectue sur un lait dont le pH est inférieur à 6,6, une large part des complexes reste associée à la micelle de caséine. Ainsi, la stabilité des laits au traitement thermique est maximale lorsqu'il est effectué entre pH 6,6 et 6,7. Les complexes impliquant les protéines sériques à la surface des micelles de caséines les stabilisent vis-à-vis de l'action de la chymosine en masquant le site de coupure de l'enzyme sur la caséine κ. Par ailleurs, les traitements thermiques appliqués au lait (95 °C, quelques minutes par exemple) ont un effet positif sur la texture des gels obtenus après acidification lente (yaourt).

Sur un autre plan, les interactions du lactose avec les protéines au cours des traitements thermiques (réaction de Maillard) peuvent en modifier les caractéristiques fonctionnelles.

2.2.2. Influence d'une concentration du lait

La concentration du lait par évaporation a un effet structurant sur la micelle de caséine en augmentant la teneur en phosphate de calcium colloïdal. Elle déstabilise la micelle de caséines par augmentation de la force ionique qui induit une baisse de pH et de son potentiel de surface par écrantage des charges négatives portées par la partie C-terminale de la caséine κ. En revanche, la concentration du lait par ultrafiltration ne modifie pas les concentrations minérales de la phase soluble et n'affecte donc pas la structure et la stabilité les micelles de caséines.

2.2.3. Influence d'une modification de l'environnement ionique

Le calcium est couramment utilisé en technologie fromagère pour compenser certains effets néfastes liés au traitement thermique appliqué et pour améliorer les propriétés rhéologiques des caillés. Généralement apporté sous forme de chlorure, le calcium induit de profondes modifications dans la répartition des sels entre la phase soluble et la phase colloïdale. Le calcium apporté conduit à la formation de phosphate de calcium (HPO_4Ca) qui compte tenu de sa solubilité est majoritairement dirigé vers la micelle de caséines. Par ailleurs, une partie du calcium apporté réduit le potentiel zêta de la micelle et sa stabilité thermique. Parallèlement, il induit une baisse d'hydratation de la micelle.

L'ajout de chlorure de sodium induit une augmentation de la force ionique et une diminution du coefficient d'activé des ions de la phase soluble. Il en résulte une augmentation de la dissociation du phosphate de calcium soluble qui est régénéré à partir de la micelle. L'addition de chlorure de sodium a donc un effet déstructurant sur la micelle. Son hydratation augmente sans que la taille et la charge ne varie.

Le citrate est un complexant du calcium. Son ajout au lait engendre un déplacement des équilibres qui se traduit par une dissociation du phosphate de calcium (HPO_4Ca) et une solubilisation du phosphate de calcium colloïdal. Le citrate a donc un effet déstructurant sur la micelle qui peut, suivant les quantités de citrate ajoutées, aller jusqu'à sa désintégration. À l'inverse du citrate, l'addition de phosphate augmente la teneur en phosphate de calcium dans la nicelle. Cependant, celle-ci est destructurée et sa stabilité thermique est accrue.

2.2.4. Influence d'une acidification

L'acidification du lait engendre des modifications physico-chimiques importantes au sein de l'organisation de la micelle et de son environnement. Une acidification rapide (acide concentré minéral ou organique) du lait entraîne une déstabilisation de la surface des micelles de caséines et la floculation des caséines sous forme d'un précipité plus ou moins granuleux dispersé dans le lactosérum tandis qu'une acidification lente (bactéries lactiques, glucono-δ-lactone) entraîne un réarrange-

ment plus profond des micelles de caséines, conduisant le cas échéant à la formation d'un gel homogène qui englobe la totalité du volume initial de lait. Au cours d'une acidification lente (figure 8), le potentiel de surface des micelles de caséines diminue progressivement jusqu'à pH 5,2. Parallèlement, la régression d'ionisation du citrate et du phosphate entraîne la dissociation des sels de calcium solubles (phosphate et citrate essentiellement) et le déplacement des équilibres minéraux du lait qui conduit à une solubilisation du phosphate de calcium colloïdal. Jusqu'à pH 5,4, la solubilisation du phosphate de calcium colloïdal perturbe peu l'organisation de la micelle. À pH inférieur à 5,4, la libération du calcium fixé aux phosphosérines provoque une désintégration progressive de la micelle qui perd sa forme sphérique. Par ailleurs, un pic de caséines solubles (majoritairement la caséine β) est atteint entre pH 5,5 et 5,2. Lorsque la charge de surface des micelles s'annule (pH 5,2), leur distribution jusque là homogène devient inhomogène. Les micelles de caséines désintégrées forment des agrégats de quelques μm dispersés dans le sérum qui, à partir de pH 5,0, s'associent par l'intermédiaire des caséines solubilisées (contraction du gel) pour former un réseau gélifié englobant entre ces mailles la totalité de la phase aqueuse (Heertje *et al.*, 1985).

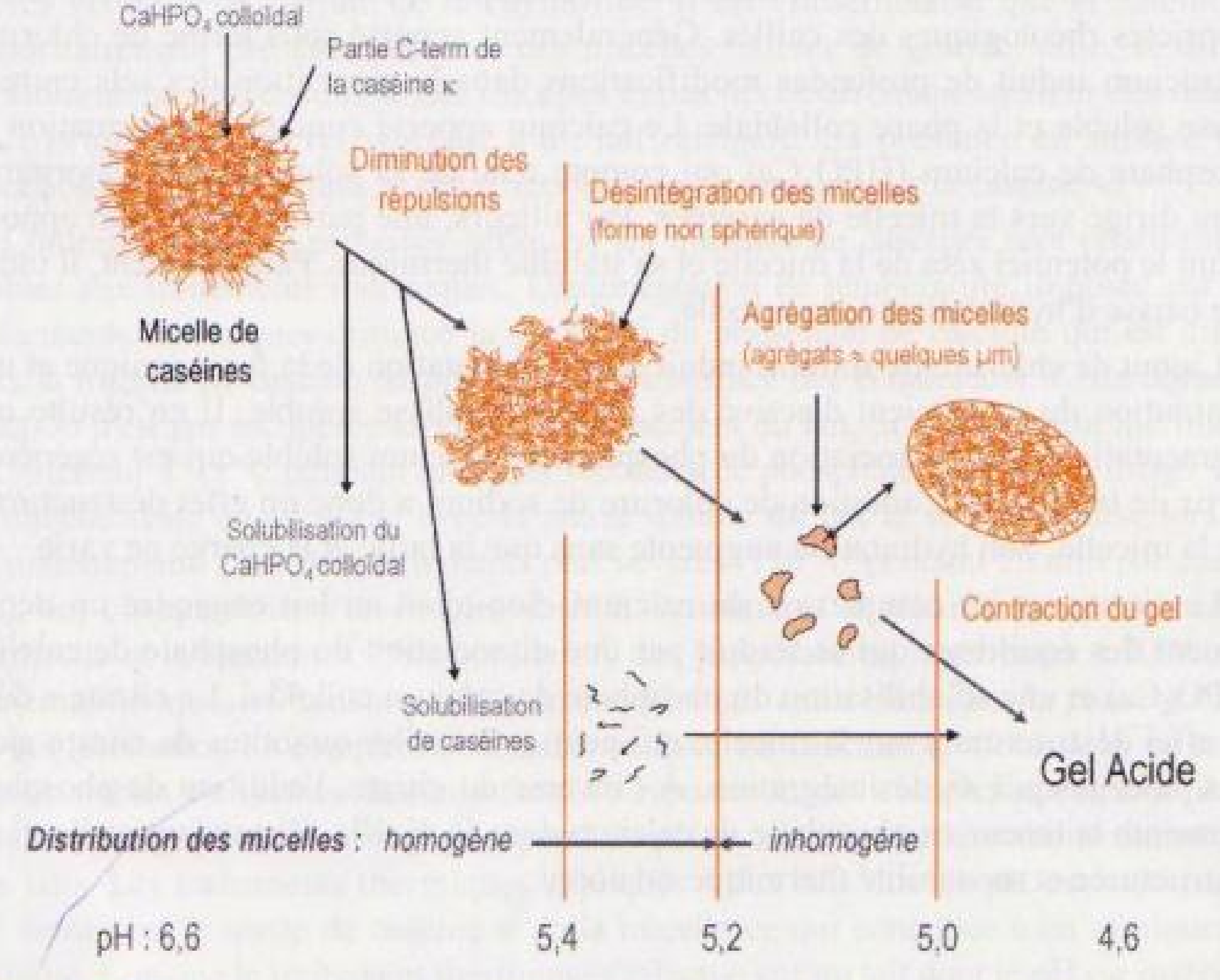


Figure 8 ■ Modification de la structure micellaire au cours de l'acidification.

2.2.5. *Influence d'un ajout de présure*

La présure, mélange de chymosine et de pepsine, est l'enzyme coagulante du complexe caséinique utilisée en technologie fromagère. La déstabilisation des micelles de caséines par la présure aboutissant à la formation d'un gel peut se décomposer en trois étapes (figure 9) :

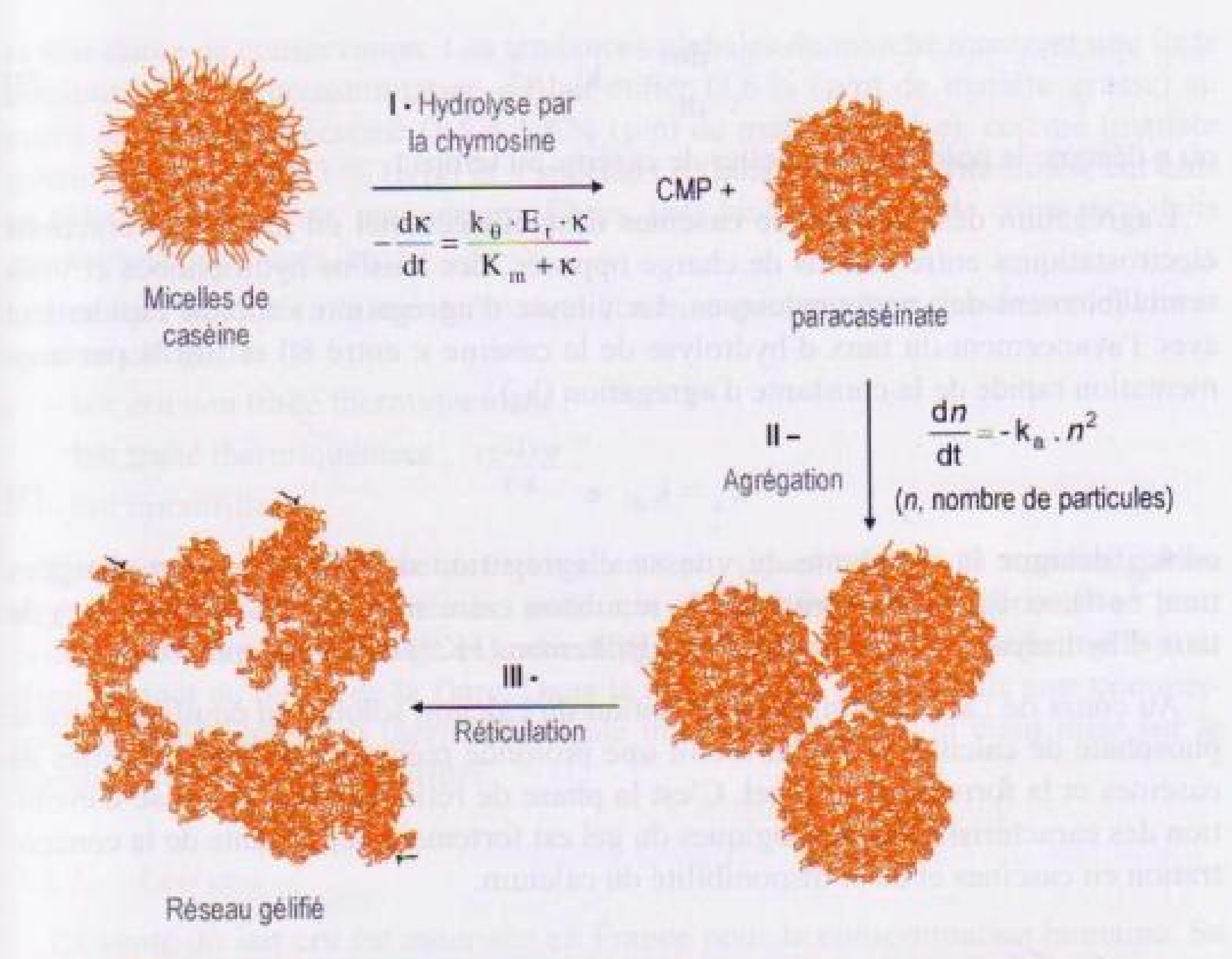


Figure 9 ■ Modification de la structure micellaire au cours de la coagulation présure.

– l'hydrolyse enzymatique de la caséine κ ;
– l'agrégation des micelles de caséines déstabilisées ;
– la formation d'un réseau gélifié par réticulation.

L'hydrolyse de la liaison Phe_{105}-Met_{106} de la caséine κ s'accompagne de la libération de sa partie C-terminale hydrophile et chargée négativement dans le sérum (CMP, caséinomacropeptide), tandis que sa partie N-terminale à caractère hydrophobe et basique reste associée à la micelle. La libération du CMP déstabilise le complexe colloïdal par réduction du potentiel de surface des micelles de caséines. La vitesse d'hydrolyse est assimilée à une cinétique de type Michaelis-Menten (cf. chapitre 10, § 1.2.2.) dans laquelle la constante de Michaelis (K_m) est très supérieure à la concentration en caséine κ (κ) :

$$-\frac{d\kappa}{dt} = \frac{k_0 \cdot E_t \cdot \kappa}{K_m + \kappa} \qquad [1]$$

avec $-\frac{d\kappa}{dt}$ vitesse d'hydrolyse de la caséine κ ; k_0 (s^{-1}), constante de vitesse de la réaction enzymatique et E_t concentration en enzyme totale.

Lorsque les forces répulsives (électrostatique, hydrique et stérique) à l'origine de la stabilité colloïdale sont neutralisées, condition obtenue dans le cas du lait pour un taux d'hydrolyse de la caséine κ d'environ 80 %, les micelles de caséines proches ou contiguës s'agrègent (cinétique d'ordre 2) :

$$\frac{dn}{dt} = -k_a \cdot n^2 \qquad [2]$$

où n désigne le nombre de micelles de caséine au temps t.

L'agrégation des micelles de caséines déstabilisées met en jeu des interactions électrostatiques entre résidus de charge opposée, des liaisons hydrophobes et vraisemblablement des ponts calciques. La vitesse d'agrégation s'accroît rapidement avec l'avancement du taux d'hydrolyse de la caséine κ entre 80 et 100 % par augmentation rapide de la constante d'agrégation (k_a) :

$$k_a = k_{a0} \cdot e^{-\frac{\psi \cdot (1-\chi)}{k \cdot T}} \qquad [3]$$

où k_{a0} désigne la constante de vitesse d'agrégation de particules non chargées ($mol^{-1} \cdot s^{-1}$), ψ l'énergie potentielle de répulsion entre micelles de caséine (J), χ le taux d'hydrolyse (%), k la constante de Boltzman ($J \cdot K^{-1}$) et T la température (K).

Au cours de l'agrégation, la mobilisation du calcium soluble en équilibre avec le phosphate de calcium colloïdal induit une profonde réorganisation des micelles de caséines et la formation d'un gel. C'est la phase de réticulation. La vitesse d'évolution des caractéristiques rhéologiques du gel est fortement dépendante de la concentration en caséines et de la disponibilité du calcium.

3. Technologie des produits laitiers

Les fondements de la transformation du lait en produits laitiers reposent sur l'influence de facteurs biochimiques (composition), physico-chimiques (pH, force ionique, couple [temps/température]) et biologiques (action des enzymes ou des flores) sur la stabilité de ce système. On peut distinguer :

- d'une part, les produits pour lesquels une grande stabilité biologique et physico-chimique est recherchée de la transformation à la consommation (laits de consommation, laits en poudre) ;
- d'autre part, les produits résultant de la séparation et concentration de toute ou partie de la matière utile du lait (protéines et/ou matière grasse) pour lesquels on exploite les facteurs d'instabilité précédemment évoqués (beurres, fromages).

Enfin, certains produits, tels que les laits fermentés, associent déstabilisation du système au cours de la transformation (coagulation acide) et stabilité de la transformation à la consommation (risque associé à la présence de pathogènes, aux phénomènes d'exsudation et de post acidification).

3.1. Laits de consommation

L'évolution des processus technologiques, des techniques de conservation et de distribution a permis l'élaboration d'une large gamme de « laits de consommation » qui se distinguent par leur composition, leur qualité nutritionnelle et organoleptique

et leur durée de conservation. Les tendances globales du marché montrent une forte diminution de la consommation de lait entier (3,6 % (p/p) de matière grasse) au profit de laits demi-écrémé (1,5 à 1,8 % (p/p) de matière grasse), écrémé (matière grasse inférieure à 0,3 % (p/p)) et « spéciaux » (laits infantiles, vitaminés, enrichis en calcium, phosphore, magnésium, fibres, laits biologiques ou de croissance, laits aromatisés, délactosés, etc.).

Les laits destinés à la consommation humaine peuvent être classés actuellement en trois catégories :

- lait cru non traité thermiquement ;
- lait traité thermiquement ;
- lait microfiltré.

Ces laits ne subissent que des traitements physiques tels que la standardisation en matière grasse et/ou protéines, minéraux et vitamines, l'homogénéisation pour éviter le problème de crémage et le chauffage ou la microfiltration tangentielle pour éliminer tout ou partie de la flore. Dans la majorité des cas, les laits sont commercialisés après traitement thermique, seule une faible proportion étant mise sur le marché à l'état cru ou microfiltré.

3.1.1. Lait cru

La vente du lait cru est autorisée en France pour la consommation humaine. Sa production et sa commercialisation sont très contrôlées en raison des risques qu'il peut encore présenter pour la santé. Les laits doivent provenir :

- d'animaux sains reconnus indemnes de brucellose et de tuberculose ;
- d'exploitations labellisées, soumises à un contrôle vétérinaire strict ;
- d'une préparation (traite, conditionnement, stockage) effectuée dans des conditions hygiéniques satisfaisantes.

Les préfets sont habilités à prendre des arrêtés précisant les conditions d'obtention et les normes de qualité microbiologique des laits crus.

3.1.2. Laits traités thermiquement

Selon l'intensité des traitements thermiques, on distingue :

- les laits pasteurisés ;
- les laits stérilisés de longue conservation.

3.1.2.1. Lait pasteurisé conditionné

La pasteurisation a pour objectif la destruction de tous les micro-organismes pathogènes du lait (figure 10). Les barèmes de pasteurisation sont définis par des couples température/temps équivalents sur la base d'une valeur de z de 5 °C : le temps est réduit d'un facteur 10 pour une augmentation de température de 5 °C.

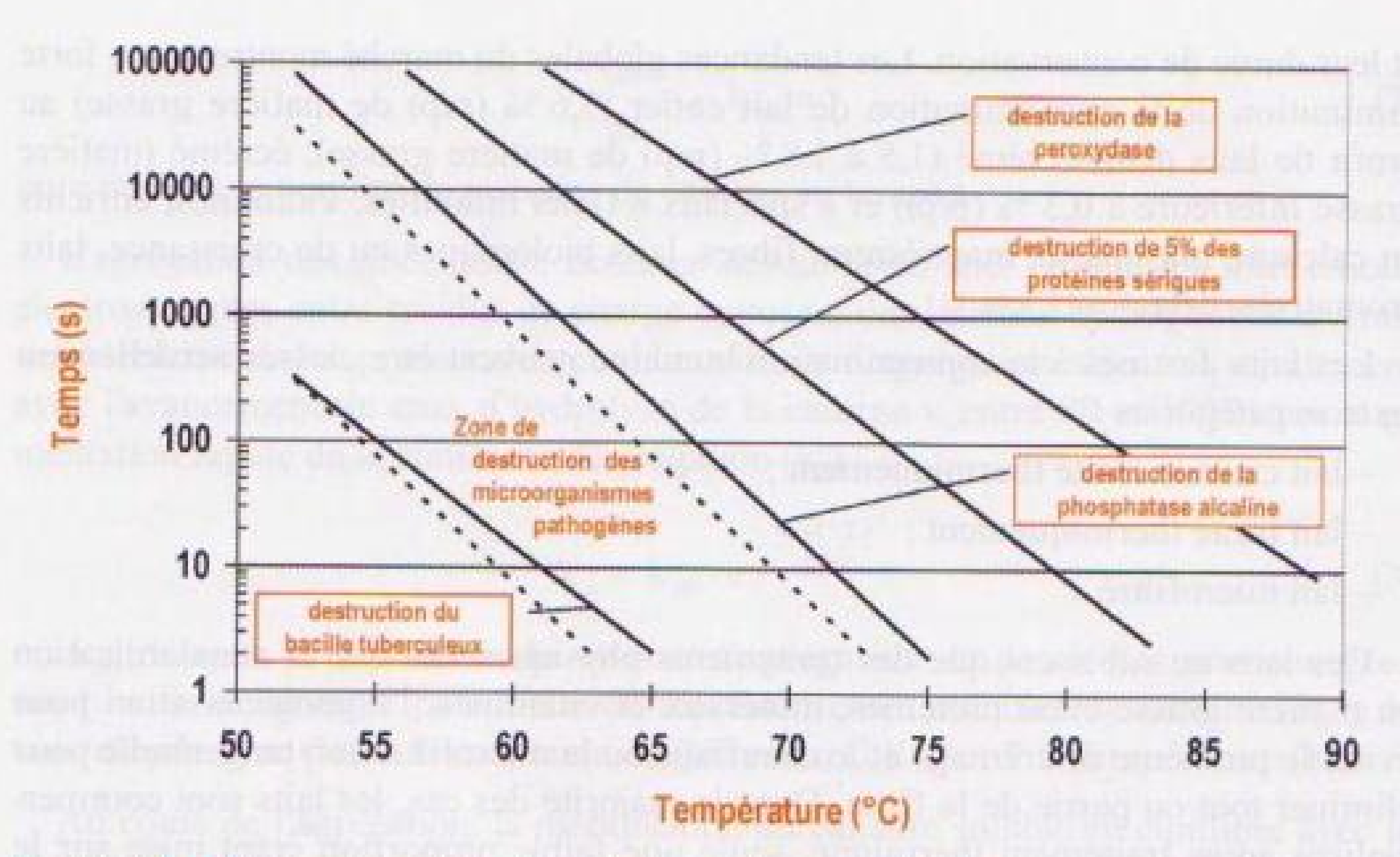


Figure 10 ■ Diagramme temps-température de la pasteurisation.

Deux types de traitement sont généralement pratiqués en laiterie :

– *pasteurisation haute* (71-72 °C / 15-40 s) ou HTST (*high temperature, short time*) : elle est réservée aux laits crus de bonne qualité. Au plan organoleptique et nutritionnel, la pasteurisation haute n'a que peu d'effets : la phosphatase alcaline est détruite et la peroxydase reste active. La DLC (date limite de consommation) des laits ayant subit une pasteurisation haute est de 7 jours après conditionnement (bouteille en verre ou en carton, polyéthylène ou aluminium) ;
– *flashpasteurisation* (85-90 °C / 1-2 s) : elle est pratiquée sur les laits crus de mauvaise qualité. La phosphatase et la peroxydase sont détruites.

La destruction du bacille tuberculeux est souvent prise comme référence pour le choix du barème de pasteurisation.

3.1.2.2. Laits de longue conservation

Ces laits ont subi un traitement thermique de type stérilisation dont l'objectif est de détruire tous les micro-organismes ; en contrepartie, leurs qualités organoleptique et nutritionnelle sont altérées par rapport aux laits pasteurisés. Les barèmes sont définis sur la base de 12 réductions décimales de *Clostridium botulinum*. Leur durée de conservation est limitée par l'évolution physico-chimique plus ou moins lente du produit susceptible d'altérer sa stabilité.

► LAITS STÉRILISÉS

Le lait est tout d'abord préstérilisé (135-150 °C / 3-10 s) après homogénéisation dans le cas des laits contenant de la matière grasse. Puis, il est refroidi à 70-80 °C et mis en bouteille (polyéthylène haute densité) pour subir une seconde stérilisation (115 °C / 15-20 min) suivie d'un refroidissement rapide. Ces laits présentent des défauts de couleur et de goût dus à la réaction de Maillard. La DLUO (date limite



d'utilisation optimale) est de 150 jours. Afin d'éviter l'oxydation des lipides, ces laits sont stockés à l'abri de la lumière ou dans des récipients opaques. Sur le plan nutritionnel, on observe des pertes en thiamine, vitamines B_{12} et B_6.

▶ LAITS UHT (ULTRA HAUTE TEMPÉRATURE)

Le lait est traité à 135-150 °C / 1-6 s. Ce traitement permet de mieux préserver les qualités nutritionnelles et organoleptiques originelles du lait car le z de la réaction de Maillard est plus élevé que celui de la destruction microbienne. Sa DLUO est de 120 jours. Cette limite de conservation est imposée pour des problèmes de stabilité physico-chimique liés à des phénomènes de précipitation, floculation et gélification dus à une protéolyse ménagée des caséines par la plasmine résiduelle ou des protéases microbiennes très thermorésistantes.

Selon les matériels utilisés, le traitement UHT est direct ou indirect :

• Dans le cas du traitement UHT direct, la vapeur de qualité alimentaire est injectée dans le lait préchauffé à 80 °C, où elle se condense en libérant sa chaleur latente d'évaporation. La dilution engendrée est corrigée lors du refroidissement par détente du mélange dans une chambre sous vide partiel.

• Dans le cas du traitement indirect, il n'y a aucun contact entre le lait et la vapeur. Le traitement s'effectue avec des échangeurs à plaques ou tubulaires. Le facteur limitant du procédé concerne l'encrassement progressif du matériel par précipitation de complexes protéines/minéraux sur les parois de l'échangeur, en particulier en phase montante :

- le traitement d'homogénéisation est réalisé soit en phase montante soit en phase descendante ; dans le dernier cas il faut s'assurer de l'asepsie de l'homogénéisateur ;
- l'intensité des traitements thermiques appliqués peut être caractérisée par le dosage du lactulose.

3.1.3. Laits microfiltrés

La microfiltration 1,4 µm permet d'obtenir un lait de consommation au goût originel préservé qui bénéficie de 21 jours de DLC. Les micro-organismes sont concentrés à des températures de l'ordre de 50 °C dans le rétentat (souvent appelé « rétentat bactérien »), l'ensemble des autres constituants étant transférés dans le perméat (microfiltrat ; figure 11). Afin d'augmenter les rendements et le nombre de réductions décimales obtenu, on réalise en général une double microfiltration, permettant d'atteindre un facteur de réduction volumique (FRV) égal à 200. Le lait est écrémé au préalable, et la crème est réincorporée au microfiltrat obtenu après un traitement thermique spécifique.

En association avec un traitement thermique modéré, et suivant l'intensité de celui-ci, la fenêtre de consommation s'étend de 35 jours (couplage avec un traitement de 20 s à 72 °C) à 6 mois (traitement de 6 s à 96 °C).

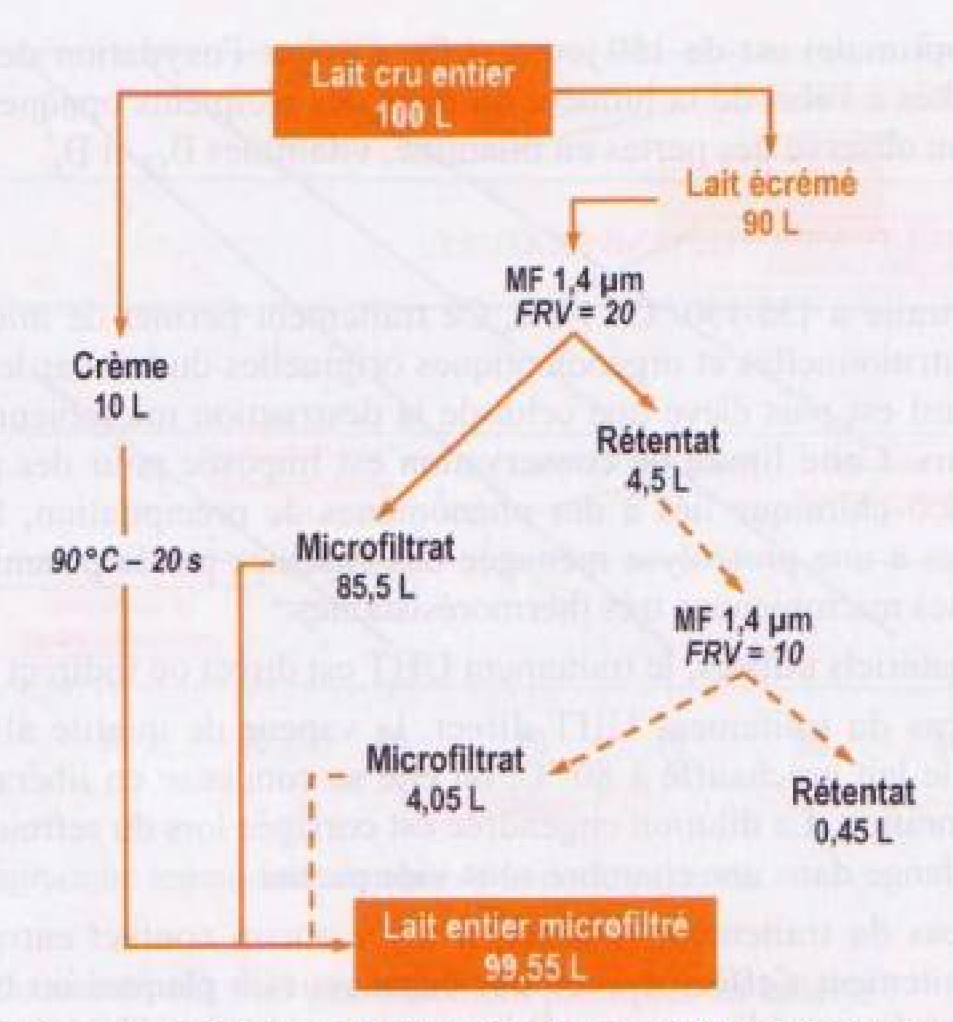


Figure 11 ■ Schéma technologique d'obtention de lait entier microfiltré.

3.2. Produits laitiers fermentés

La transformation du lactose par voie microbienne est à l'origine d'une grande diversité de produits fermentés (yaourt, kéfir, koumys, etc.) et constitue une des plus anciennes pratiques pour la conservation des constituants du lait. La fermentation conduit à la formation d'un gel acide (voir alcoolique) constitué d'un réseau de protéines et de globules gras emprisonnant la phase aqueuse. Le plus populaire d'entre eux, le yaourt, est un lait fermenté obtenu exclusivement par le développement des seules bactéries lactiques *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* et *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* qui doivent être ensemencées simultanément. Tous les produits contenant des ferments autres que ceux-ci ne peuvent se voir attribuer le nom de yaourt mais de lait fermenté. Dans le produit fini, les bactéries lactiques doivent être viables, actives et présentes en quantité abondante ($\sim 10^7$ bactéries$\cdot g^{-1}$). La teneur en acide lactique ne doit pas être inférieure à 0,7 % (p/p) lors de la vente au consommateur (Mahaut *et al.*, 2000). De nombreuses molécules générées au cours de la fermentation, autres que l'acide lactique, participent aussi aux qualités organoleptiques (diacétyle, acétaldéhyde, etc.) et à la valeur santé (peptides bioactifs, β-galactosidase, etc.) des produits fermentés.

Parmi les yaourts, on distingue les fermes et les brassés. Dans le cas des yaourts fermes, la fermentation a lieu directement en pots ; ce sont généralement des yaourts natures ou aromatisés. Dans le cas des yaourts brassés, la fermentation a lieu en cuve avant brassage, lissage (jusqu'à liquéfaction complète du gel dans le cas des yaourts à boire) et conditionnement ; ce sont des yaourts veloutés natures ou aux fruits.



3.2.1. Standardisation du lait de fabrication

La standardisation du lait mis en œuvre pour la fabrication des yaourts permet d'atteindre les exigences normatives et qualitatives du produit fini. Elle concerne principalement l'extrait sec total, la teneur en protéines et en matière grasse. L'extrait sec total est généralement plus élevé pour les yaourts fermes que pour les yaourts brassés. L'enrichissement des laits en protéines (autour de 5 g·kg^{-1}) contribue à la fermeté du gel et prévient les risques de séparation de phase. Il s'effectue soit par addition de poudre (poudre de lait écrémé, concentré de protéines de lactosérum) soit par évaporation ou par technique membranaire (ultrafiltration, osmose inverse).

Par ailleurs, des glucides, sous forme de saccharose ou de glucose, sont ajoutés dans les yaourts sucrés ou aux fruits. Des polysaccharides (pectine, xanthane, etc.) peuvent également être utilisés comme stabilisants dans les yaourts aux fruits.

3.2.2. Homogénéisation

L'homogénéisation du lait a plusieurs objectifs : elle améliore la fermeté des gels obtenus après fermentation, augmente leur capacité de rétention d'eau et réduit la synérèse. Par ailleurs elle prévient le crémage au cours des opérations « statiques » de la fabrication du yaourt, en particulier lors de la période d'incubation en pots ou dans les cuves de fermentation. L'homogénéisation s'effectue le plus souvent en phase montante de pasteurisation à une pression d'homogénéisation autour 20 MPa et à une température comprise entre 60 et 90 °C. Au cours du traitement d'homogénéisation, l'interface lipidique créée se recouvre de protéines (micelles de caséines, protéines sériques). La couverture protéique des globules gras homogénéisés implique ces derniers dans la formation du réseau protéique au cours de l'acidification (Lucey et Singh, 1998).

3.2.3. Traitement thermique

En modifiant les caractéristiques physico-chimiques des protéines, le traitement thermique du lait (autour de 90 °C / 10 min) a un rôle déterminant sur les propriétés rhéologiques des gels lactiques. Par dénaturation thermique, les protéines sériques (plus de 90 %) forment des agrégats covalents solubles ou associés à la caséine κ en surface des micelles de caséines. En modifiant la surface des micelles, le traitement thermique induit une augmentation du pH de début de gélification lors de la fermentation, une augmentation de la fermeté du gel et la réduction de sa synérèse (figure 12). En outre, le traitement thermique crée un milieu favorable au développement des bactéries lactiques en détruisant les micro-organismes indésirables et compétiteurs potentiels des ferments lactiques, en diminuant le potentiel d'oxydo-réduction, en participant à la production d'acide formique, etc.

3.2.4. Fermentation

À l'issue du traitement thermique, le lait est refroidi à une température comprise entre 40 et 45 °C et ensemencé en ferments lactiques réalisant l'acidification en

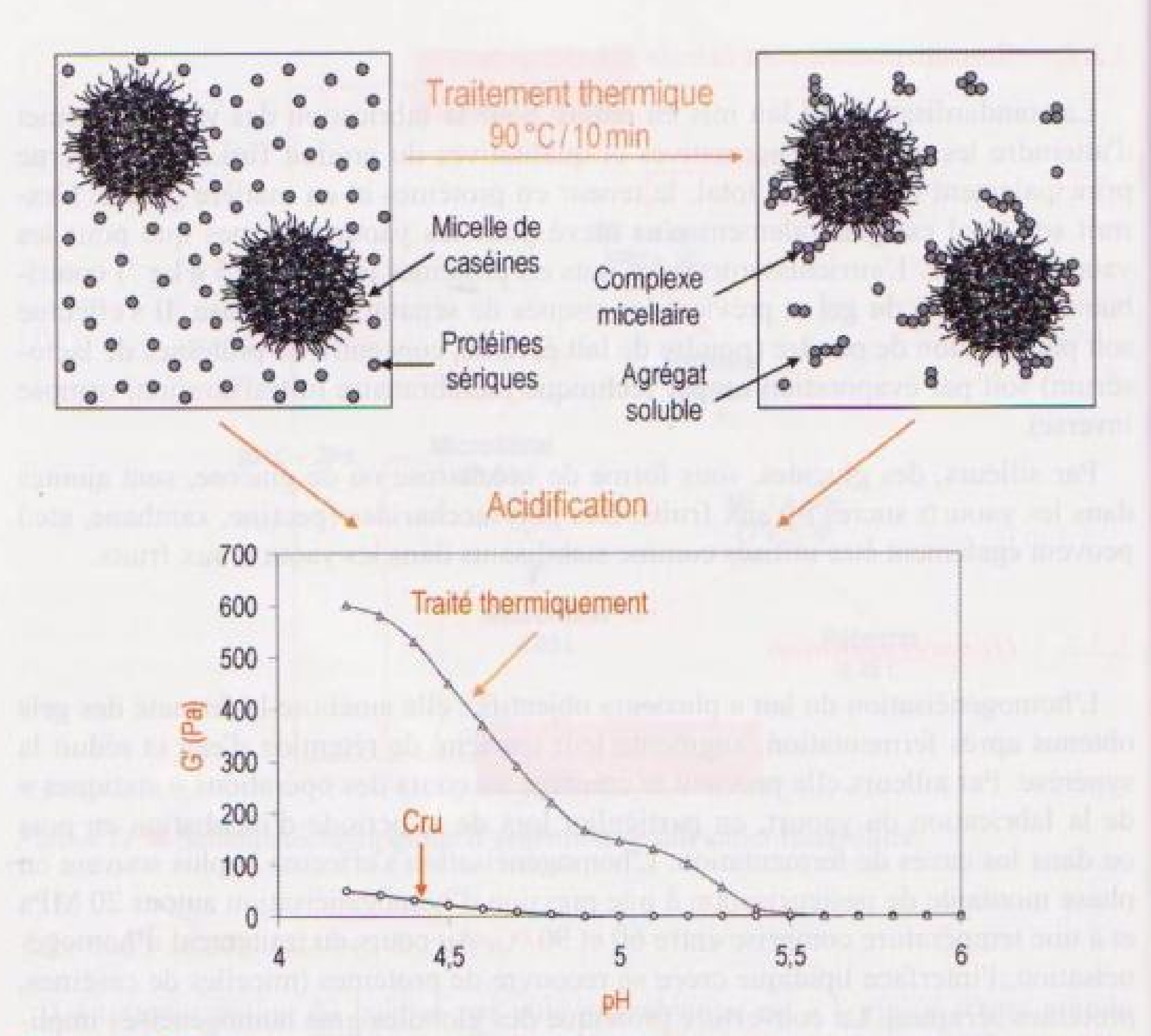


Figure 12 ■ Représentation schématique de l'influence du traitement thermique sur les constituants protéiques du lait et les caractéristiques rhéologiques (G') des gels obtenus.

cuve ou en pot. Dans le cas du yaourt, les ferments utilisés appartiennent aux souches *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*. Ils se développent de manière synergique (figure 13) et se distinguent par leur pouvoir acidifiant, aromatisant et par leur température optimum de croissance. Ainsi, selon la proportion des souches apportée au moment de l'ensemencement et la température consigne d'incubation, des produits aux propriétés organoleptiques différentes sont obtenus. Par ailleurs, certaines souches libèrent des exopolysaccharides dans le milieu qui modifient les caractéristiques rhéologiques du gel.

Au cours de l'acidification, les micelles de caséines coiffées d'agrégats de protéines sériques sont déstabilisées et commencent à s'associer lorsque le pH du milieu devient inférieur à 5,5. Il s'ensuit un réarrangement moléculaire conduisant à la formation d'un réseau protéique gélifié incluant les globules gras homogénéisés et dont la fermeté augmente avec le degré d'acidification (Tamime et Robinson, 1999). Lorsque le pH atteint la valeur de 4,6, le yaourt est refroidi à une température proche de 5 °C pour contrôler l'activité métabolique des ferments. Tandis que les yaourts fermes (fermentation en pot) sont refroidis à 5 °C en une seule étape en tunnel, le refroidissement des yaourts brassés (fermentation en cuve) s'effectue en deux étapes. La première étape, réalisée dans un échangeur à plaques, permet d'at-

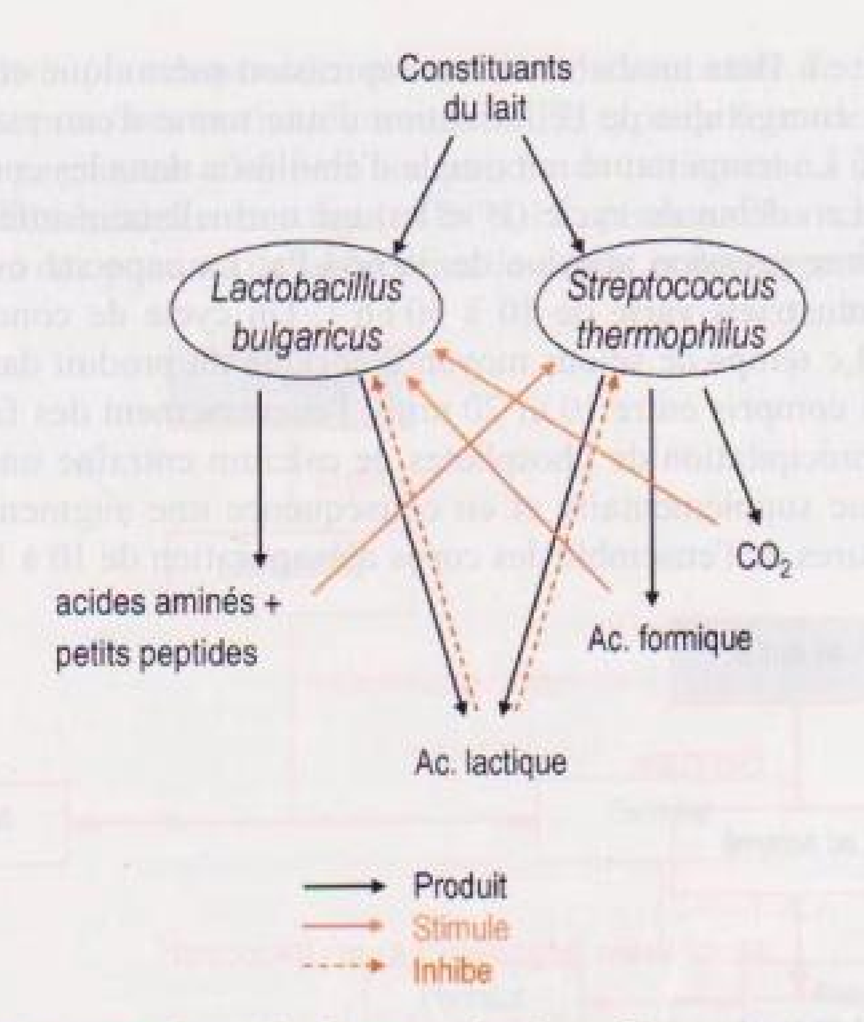


Figure 13 ■ Action synergique des ferments lactiques du yaourt.

teindre une température de 15-20 °C. Après brassage et lissage, le gel est ensuite conditionné en pot et refroidi jusqu'à 5 °C en tunnel.

3.3. Laits en poudre

3.3.1. Séchage du lait

Après bactofugation pour éliminer les éléments dispersés (spores butyriques, sels minéraux, fines de caséines), le lait, entier, écrémé ou standardisé, est traité thermiquement avant séchage ; il peut également être soumis à des opérations de concentration différentielle (microfiltration, ultrafiltration, nanofiltration, osmose inverse). Au terme de ces opérations et après formulation éventuelle, le liquide est soumis à une homogénéisation, concentré par évaporation sous vide et finalement séché par pulvérisation (atomisation) ou sur cylindres chauffants (cf. chapitre 10 du premier volume).

La concentration par évaporation sous vide (procédé d'élimination de l'eau par ébullition) du lait et de ses dérivés est basée sur l'abaissement du point d'ébullition du liquide (donc de la température de traitement) par diminution de la pression. L'usage du vide repose sur deux raisons principales : d'une part, l'écart de température de part et d'autre de la surface de chauffe est supérieur pour une pression de vapeur de chauffage donnée, ce qui permet de réduire la consommation de vapeur par augmentation de la capacité évaporatoire et/ou mise en œuvre d'un plus grand nombre d'effets ; d'autre part, il permet d'évaporer des solutions thermosensibles. Dans l'industrie laitière, le matériel le plus utilisé est l'évaporateur sous vide mul-

tiple effet tubulaire à flots tombants, à recompression mécanique et à thermocompression. Le coût énergétique de l'élimination d'une tonne d'eau est compris entre 360 et 1 080 kWh. La température maximale d'ébullition dans les concentrateurs de l'industrie laitière en début de cycle (1er effet) est normalement inférieure à 70 °C, correspondant à une pression absolue de 30 664 Pa. La capacité évaporatoire des concentrateurs industriels varie de 10 à 30 $t{\cdot}h^{-1}$. Un cycle de concentration dure entre 10 et 20 h. Le temps de séjour moyen théorique du produit dans un évaporateur industriel est compris entre 10 et 20 min ; l'encrassement des faisceaux d'évaporation dû à la précipitation de phosphates de calcium entraîne une résistance en transfert thermique supplémentaire et en conséquence une augmentation progressive des températures de l'ensemble des corps d'évaporation de 10 à 15 °C.

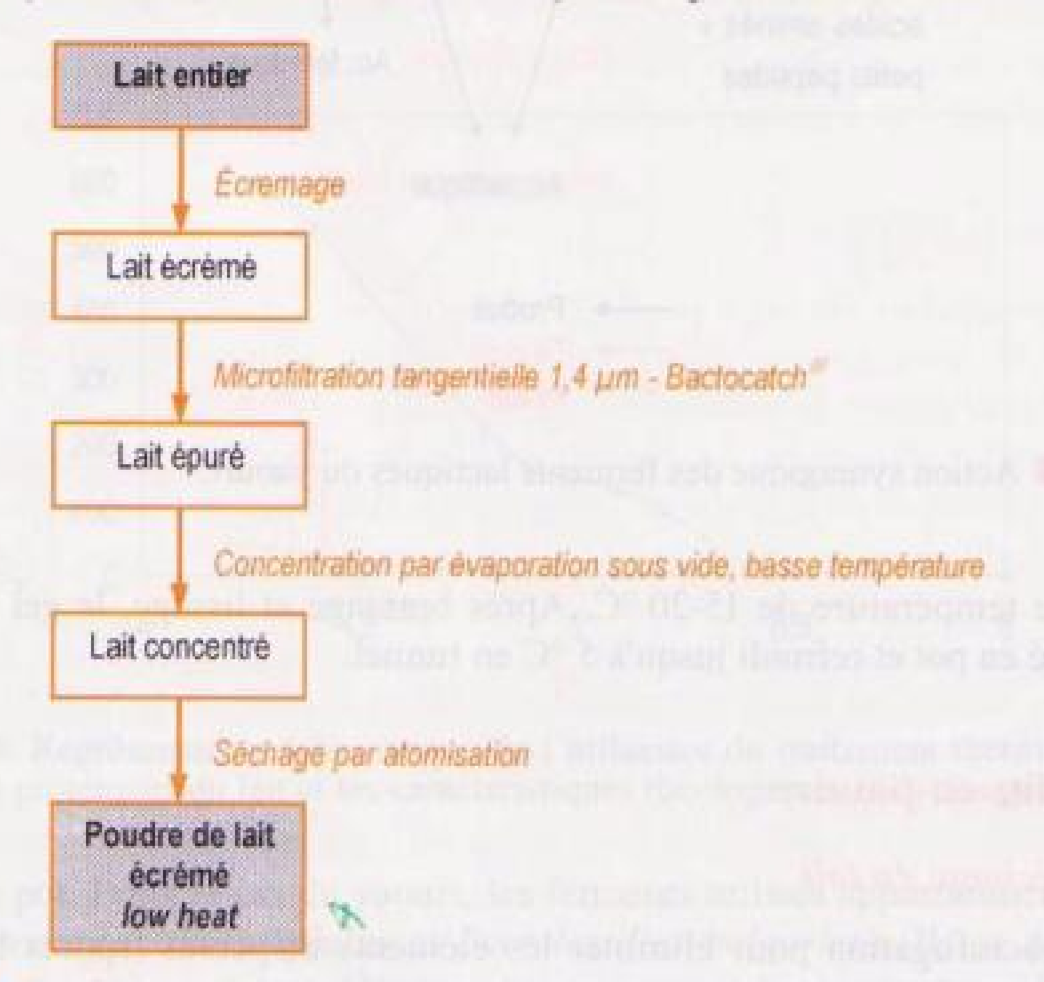


Figure 14 ■ Schéma technologique d'obtention de la poudre de lait écrémé *low heat*.

Le concentré obtenu par évaporation sous vide peut être déshydraté grâce à différentes techniques de séchage qui se distinguent par leur coût énergétique et la qualité des poudres obtenues ; le procédé le plus répandu est le séchage par atomisation, qui consiste à pulvériser le produit à sécher (liquide ou suspension) dans un courant de gaz chaud de manière à obtenir presque instantanément une poudre. Il s'agit de ce fait d'un séchage particulaire par entraînement, dans lequel l'air sert à la fois de fluide caloporteur et de gaz vecteur pour l'eau enlevée : entrant chaud et sec dans la tour de séchage, il ressort humide et moins chaud. En France, les tours de séchage industrielles ont des capacités évaporatoires comprises entre 0,5 et 4,5 $t{\cdot}h^{-1}$, nécessitant des débits d'air de $1{\cdot}10^4$ à $12{\cdot}10^4$ $m^3{\cdot}h^{-1}$, avec des cycles de production variant de 4 à 24 h en moyenne. La conduite d'une installation de séchage de lait écrémé suppose la maîtrise de nombreux paramètres thermodynamiques, physiques et technologiques, tels que les températures d'air d'entrée et de sortie (respectivement de 180 à 280 °C et de 80 à 90 °C), les vitesses et l'humidité relative des airs

(5 à 10 % en sortie), la température et viscosité du concentré, le type de pulvérisation (buse haute pression, bi-fluide ou turbine), le type de tour (de 1 à 3 temps), etc. Ces conditions permettent d'obtenir une poudre de lait écrémé à 0,2 d'a_w (25 °C) et à 4 % d'humidité résiduelle. Les figures 14 et 15 présentent les schémas technologiques d'obtention des poudres de lait écrémé *low heat* et déséroprotéiné.

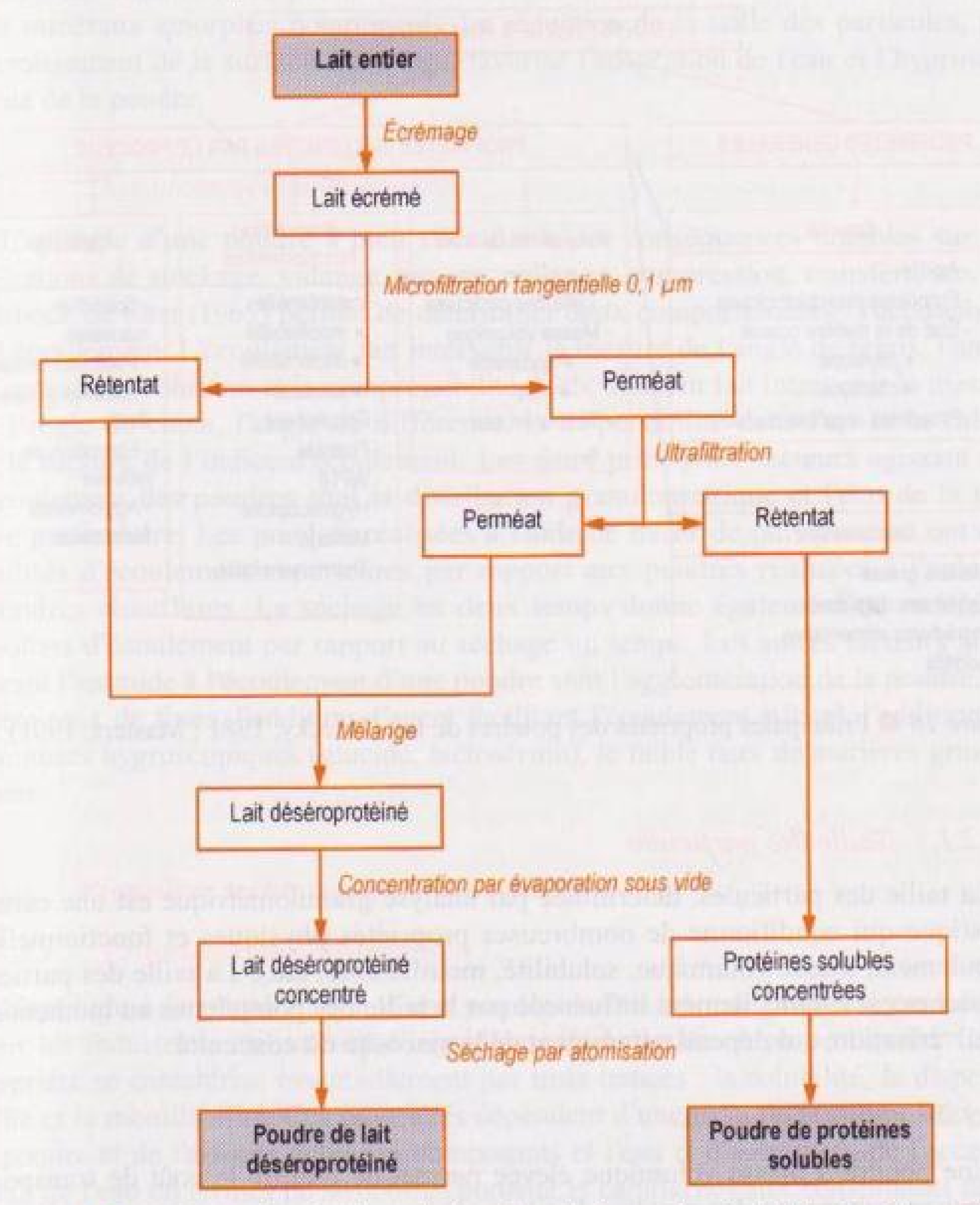


Figure 15 ■ Schéma technologique d'obtention de la poudre de lait écrémé issue de la combinaison de la microfiltration et l'ultrafiltration (poudre Primin®).

3.3.2. *Propriétés physiques des poudres de lait*

La qualité des poudres de lait dépend de nombreux facteurs dont la qualité du produit avant séchage et la conduite de l'opération de séchage proprement dite. Pisecky (1981) et Masters (1991) ont classé les principales propriétés des poudres laitières en deux catégories (*figure 16*) :

– propriétés inhérentes au produit (propriétés biochimiques, microbiologiques, etc.) ;
– propriétés inhérentes au procédé (propriétés fonctionnelles et défauts éventuels).

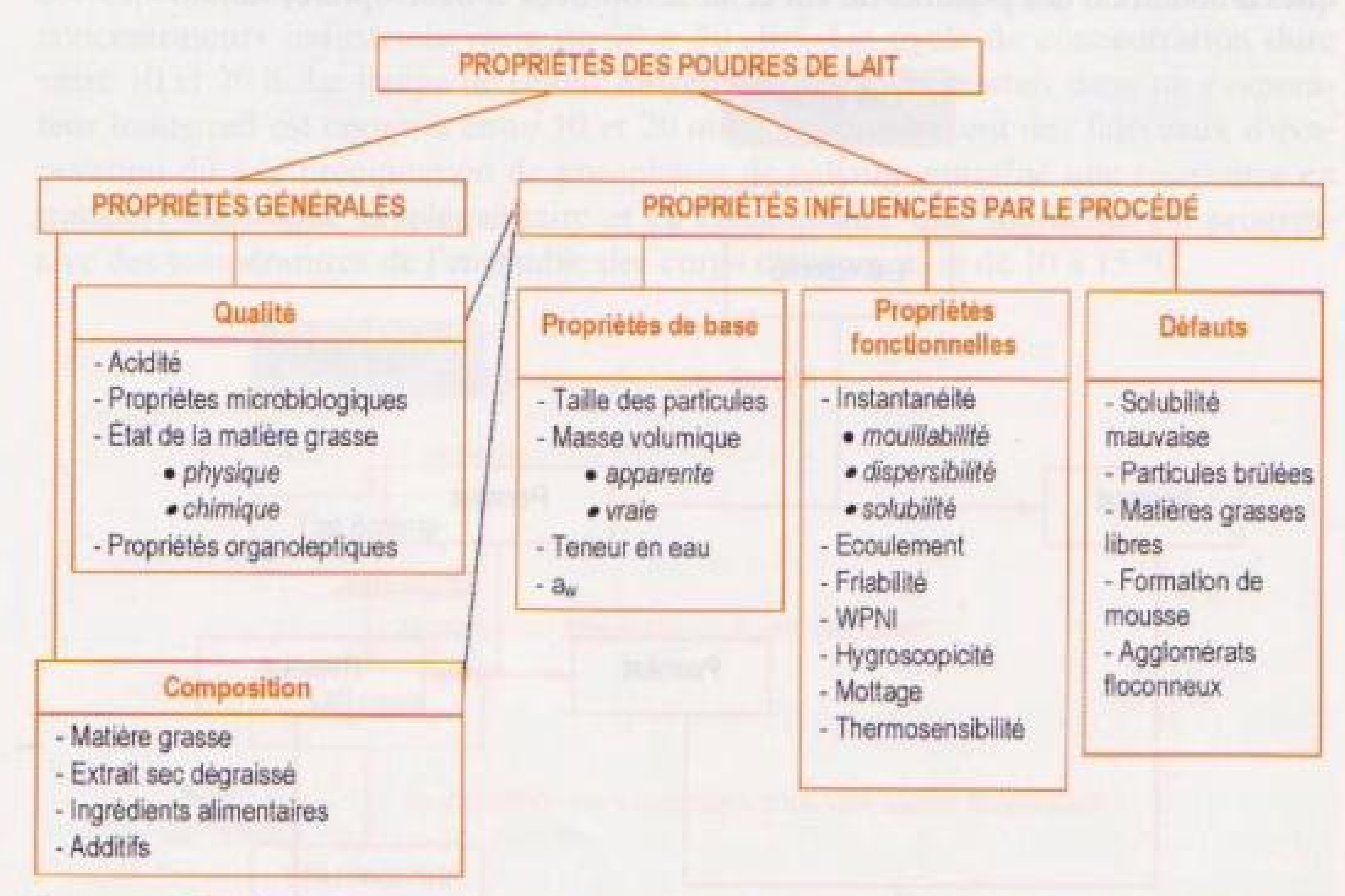


Figure 16 ■ Principales propriétés des poudres de lait (Pisecky, 1981 ; Masters, 1991).

3.3.2.1. Taille des particules

La taille des particules, déterminée par analyse granulométrique est une caractéristique qui conditionne de nombreuses propriétés physiques et fonctionnelles (écoulement, masse volumique, solubilité, mouillabilité, etc.). La taille des particules sèches est essentiellement influencée par la taille des gouttelettes au moment de la pulvérisation, qui dépend notamment de la viscosité du concentré.

3.3.2.2. Masse volumique

Une poudre à masse volumique élevée permet de réduire le coût de transport. La masse volumique des poudres laitières est une propriété complexe qui dépend de facteurs primaires tels que la masse volumique vraie ou absolue du produit, le taux d'air occlus dans chaque particule et la teneur en air interstitiel entre chaque particule. La masse volumique apparente est essentiellement influencée par les caractéristiques du concentré (matière sèche, température, intensité du traitement thermique, aération du concentré et capacité moussante), de l'air de séchage (caractéristiques thermodynamiques à l'entrée et la sortie de l'installation) et de la poudre (taille des particules, humidité résiduelle).

3.3.2.3. *Hygroscopicité*

L'hygroscopicité d'une poudre est caractérisée par sa teneur en humidité finale après avoir été mise en équilibre avec un air à humidité relative contrôlée, dans des conditions de température préalablement définies. L'hygroscopicité d'une poudre de lait est conditionnée par le caractère hydrophile des constituants (lactose et sels minéraux amorphes notamment). La réduction de la taille des particules, par accroissement de la surface d'échange, favorise l'adsorption de l'eau et l'hygroscopicité de la poudre.

3.3.2.4. *Écoulement et éboulement*

L'aptitude d'une poudre à bien s'écouler a des conséquences notables sur les opérations de stockage, vidange, pesage, mélange, compression, transfert, etc. La méthode de Carr (1965) permet de déterminer deux comportements : l'écoulement et l'éboulement. L'écoulement fait intervenir la mesure de l'angle de repos, l'angle de spatule, la cohésion et la compressibilité. L'éboulement fait intervenir la mesure de l'angle de chute, l'angle de différence, la dispersibilité dans l'air et la valeur de la mesure de l'indice d'écoulement. Les deux principaux facteurs agissant sur l'écoulement des poudres sont la distribution granulométrique et l'état de la surface particulaire. Les poudres réalisées à l'aide de buses de pulvérisation ont des qualités d'écoulement supérieures par rapport aux poudres réalisées à l'aide de cylindres chauffants. Le séchage en deux temps donne également de meilleurs résultats d'écoulement par rapport au séchage un temps. Les autres facteurs améliorant l'aptitude à l'écoulement d'une poudre sont l'agglomération de la poudre, un faible taux de fines, l'addition d'agent facilitant l'écoulement (silice), l'addition de composés hygroscopiques (glucide, lactosérum), le faible taux de matières grasses libres.

3.3.3. **Propriétés technologiques des poudres de lait**

3.3.3.1. *Propriétés de réhydratation*

L'aptitude à la réhydratation d'une poudre de lait est une propriété essentielle pour les industriels utilisateurs d'ingrédients déshydratés en phase liquide. Cette propriété se caractérise essentiellement par trois indices : la solubilité, la dispersibilité et la mouillabilité. Ces propriétés dépendent d'une part, de la composition de la poudre et de l'affinité entre ces composants et l'eau et d'autre part, de l'accessibilité de l'eau en termes de structure (porosité et capillarité) aux constituants de la poudre.

La mouillabilité, aptitude d'une poudre à s'immerger après avoir été déposée à la surface de l'eau, reflète la capacité de la poudre à absorber de l'eau à sa surface. Il faut également associer à la mouillabilité, l'aptitude au gonflement de la poudre. En effet, lorsqu'une poudre de protéines absorbe de l'eau, elle gonfle progressivement. Puis, la structure de la poudre disparaît lorsque les divers constituants (notamment les protéines) ont été solubilisés ou dispersés. Parmi les facteurs influençant la mouillabilité, on peut citer :

– la présence de grosses particules primaires ainsi que des particules agglomérées : c'est l'effet recherché par les procédés de granulation (avec ou sans recyclage des fines) des poudres de lait ;
– la masse volumique de la poudre ;
– la présence de matière grasse en surface des grains de poudre (matières grasses libres) ;
– la porosité et la capillarité des particules de poudre ainsi que la présence d'air interstitiel.

La dispersibilité est probablement le meilleur critère pris isolément pour évaluer l'aptitude à la réhydratation d'une poudre de lait, puisque dans une certaine mesure, elle est influencée par la mouillabilité et la solubilité. La dispersibilité est améliorée par :
– la diminution du rapport [protéines/extrait sec] ;
– une taille optimale de particules autour de 200 µm ;
– le séchage à basse température (poudre *low heat*).

Les insolubles formés au cours de l'obtention d'une poudre de lait sont généralement dus à la dénaturation de protéines solubles et à la précipitation de phosphate de calcium. De ce fait, la solubilité est notamment influencée par le traitement thermique avant séchage, la viscosité et la composition biochimique du concentré, la température de l'air de séchage et la taille des particules de poudre.

3.3.3.2. *Aptitudes des laits recombinés en transformation fromagère*

L'utilisation de lait recombiné à partir de poudres se justifie pour diverses raisons économiques, alimentaires, diététiques, géographiques et accessoirement organoleptiques et techniques. Elle permet la délocalisation de la transformation fromagère dans des pays où la production laitière est insuffisante, et son report lorsque la production laitière présente une forte saisonnalité (cas du lait de chèvre ou de brebis).

Les poudres de lait utilisées en technologie fromagère doivent présenter une qualité microbiologique conforme à la réglementation et une aptitude fromagère acceptable. Ces éléments dépendent de la qualité du lait mis en œuvre et de l'intensité des traitements thermiques subis par le lait lors de sa transformation en poudre, qui sont à l'origine des modifications physico-chimiques induisant une perte d'aptitude à la coagulation. Pour satisfaire ces impératifs microbiologiques et technologiques, on préconise donc un traitement de pasteurisation du lait HTST (*high temperature, short time*) de 75 °C-20 s avant séchage, afin de garantir la qualité hygiénique tout en préservant une bonne aptitude à la coagulation. Ces préconisations ne valent que si le lait possède à l'origine une bonne qualité microbiologique. Dans le cas contraire, l'intensité du traitement thermique appliqué doit être plus élevée, compromettant ainsi l'aptitude à la coagulation : les poudres de lait obtenues ne peuvent dans ce cas être utilisées en technologie fromagère.

La microfiltration tangentielle 1,4 µm suivie d'une concentration par évaporation sous vide à basse température et d'un séchage par atomisation s'avère une techno-

logie tout à fait adaptée pour la réalisation d'une poudre « *ultra low heat* » (faible dénaturation des protéines solubles) ; le lait reconstitué à partir de cette poudre, conforme à la réglementation au plan microbiologique, présente une coagulation à la présure identique à celle du lait cru initial (Schuck *et al.*, 1994 ; figure 17).

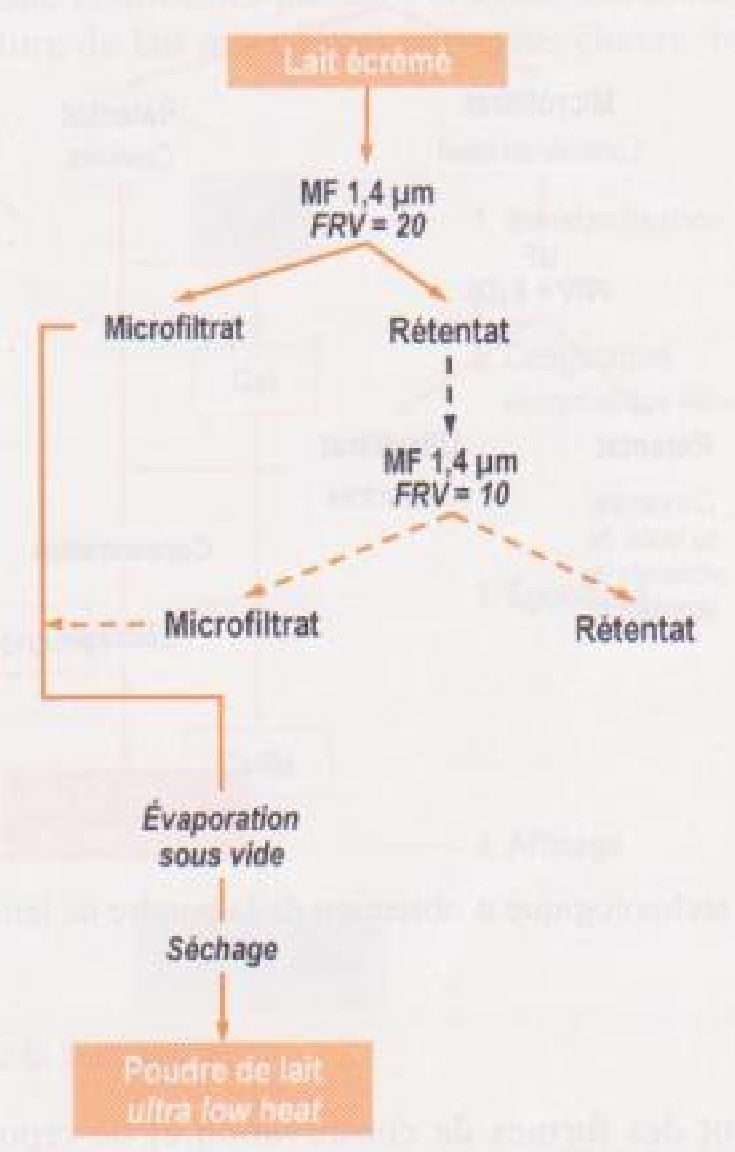


Figure 17 ■ Schéma technologique d'obtention d'une poudre de lait écrémé *ultra low heat.*

La qualité technologique d'une poudre destinée à la fromagerie peut être améliorée en réduisant la teneur en protéines solubles du lait. La mise en œuvre de la microfiltration tangentielle 0,1 µm (cf. chapitre 9, § 1.) permet de réaliser une poudre de phosphocaséinate natif de calcium (PPCN). Le temps de prise du PPCN reconstitué à partir de la poudre est réduit de 53 % et la fermeté à 30 min est améliorée de 50 %, comparés à un lait cru présentant la même teneur en caséines. L'enrichissement du lait en caséine par microfiltration 0,1 µm permet d'améliorer significativement le rendement fromager, surtout dans le cas des fromages à pâte dure. En outre, l'élimination partielle des protéines solubles qui en résulte limite les effets négatifs des traitements thermiques sur la coagulation par la présure dus à la formation de complexe entre la β-lactoglobuline et la caséine κ. Ces éléments ont conduit au développement d'une technologie d'obtention de poudre *medium* ou *high heat* (Primin®) dont l'aptitude à la transformation fromagère est identique voir supérieure à celle du lait cru (figure 18).

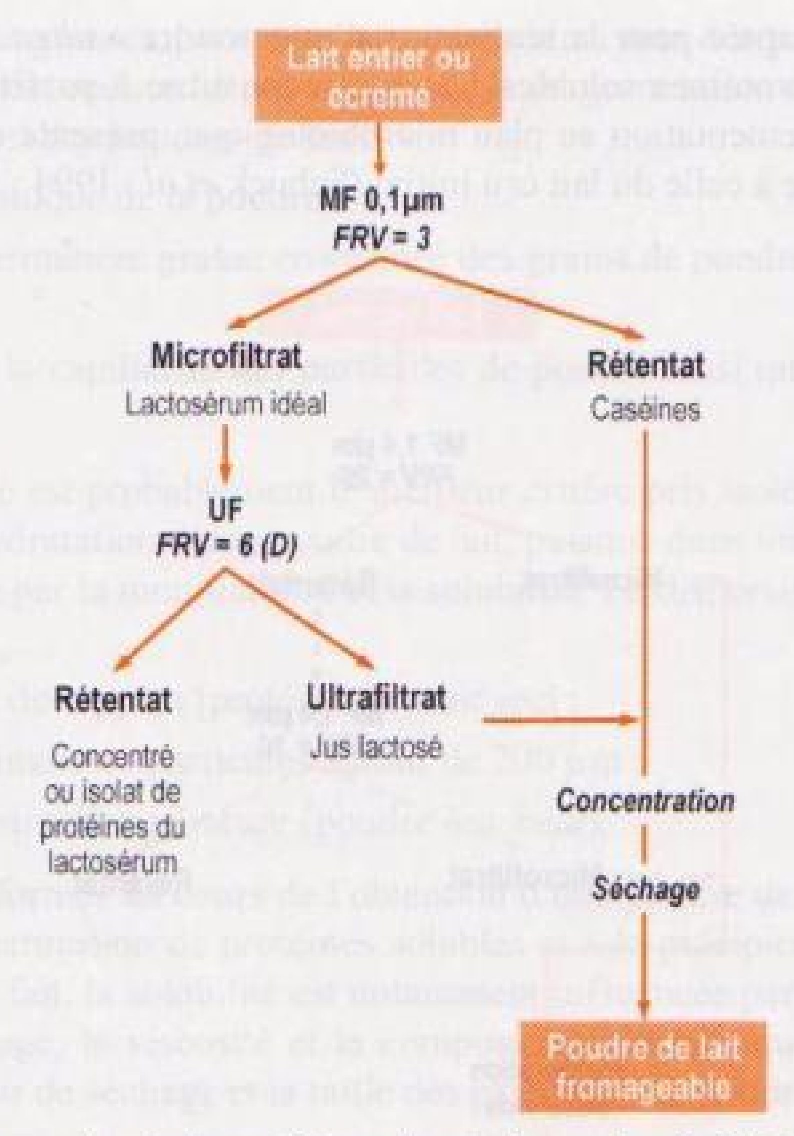


Figure 18 ■ Schéma technologique d'obtention de la poudre de lait Primin®.

3.4. Fromages

Les fromages sont des formes de conservation et de report ancestrales de la matière utile du lait (protéines, matière grasse ainsi qu'une partie du calcium et phosphore), dont les qualités nutritionnelles et organoleptiques sont appréciées par l'homme dans presque toutes les régions du globe.

La définition « fromage » est réservée au produit fermenté ou non, affiné ou non, obtenu à partir des matières d'origine exclusivement laitières (lait, lait partiellement ou totalement écrémé, babeurre) utilisées seules ou en mélange et coagulées en tout ou en partie avant égouttage ou après élimination partielle de la phase aqueuse ; la teneur minimale en matière sèche du produit ainsi défini doit être de 23 g pour 100 g de fromage (bien que pour des produits maigres de type pâte fraîche, elle soit inférieure à 13 % ; décret 88.1206 du 30 décembre 1988, art. 1er). Le fromage peut être assimilé à une concentration des éléments majeurs du lait (protéines, matière grasse), réalisée par égouttage d'un coagulum obtenu par acidification et ou action d'une enzyme (le plus souvent la présure extraite de la caillette des jeunes bovins avant sevrage). La fabrication proprement dite comporte quatre phases : standardisation du lait, coagulation, égouttage et affinage (figure 19).

La préparation des laits (standardisation) pour un fromage donné s'appuie sur des « standards » définis par les technologues aux plans physico-chimiques et microbiologiques. La transformation de l'état liquide à l'état de gel (coagulation) diffère

selon que la coagulation est induite par acidification et/ou par action d'enzymes coagulantes. Après séparation de phases (égouttage), la caillebotte subit ou non un affinage spécifique pour chaque type de fromage.

La technologie permet d'obtenir une très grande variété de fromages, selon la position et/ou l'intensité relative des phases « coagulation/acidification » et « égouttage » et selon la nature du lait mis en œuvre (vache, chèvre, brebis — seuls ou en mélange).

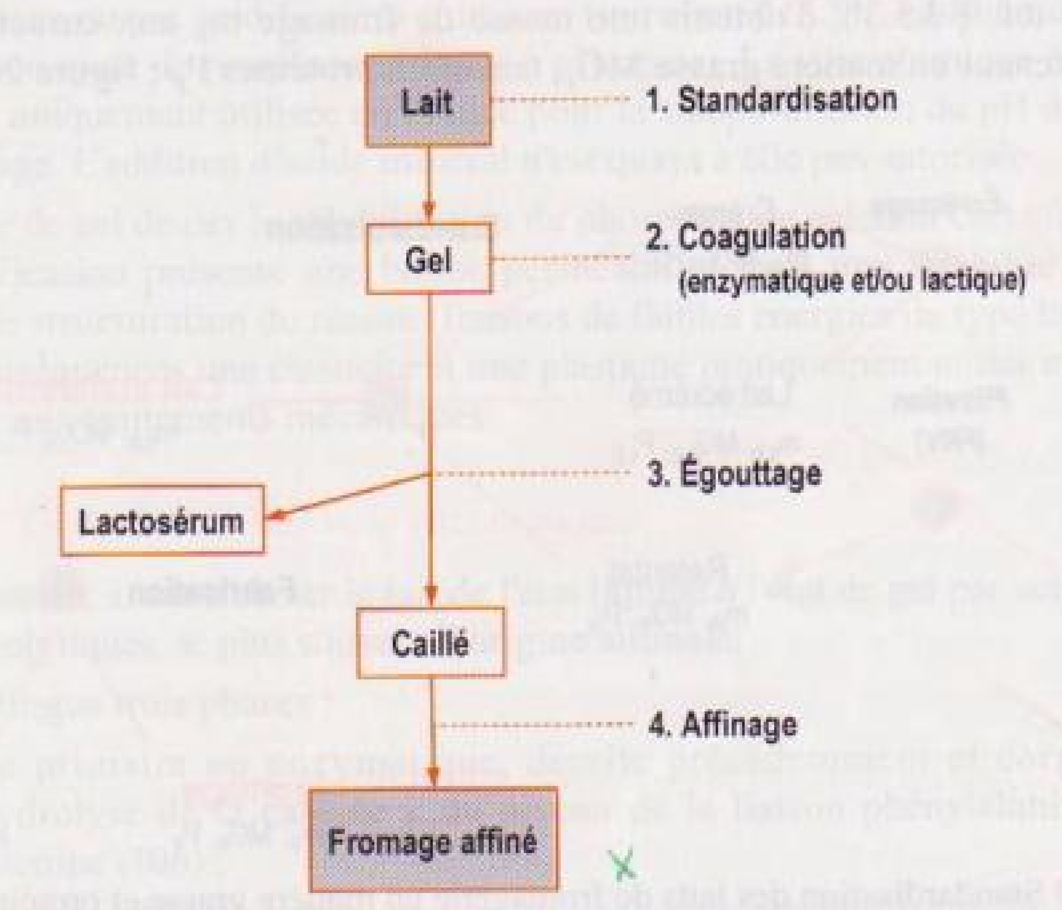


Figure 19 ■ Bases de la fromagerie.

3.4.1. Standardisation physico-chimique et biologique des laits

La qualité du lait de fromagerie peut être définie comme l'aptitude à donner un coagulum permettant d'aboutir dans des conditions normales de travail à un fromage aux caractéristiques physico-chimiques définies et avec un rendement satisfaisant.

Outre sa complexité et son hétérogénéité, le lait présente une grande variabilité dans sa composition selon l'espèce animale, la race, l'individu, le stade et le numéro de lactation, le mode et le moment de la traite, la saison, le climat, l'alimentation, etc. Tous les laits n'ont pas la même aptitude à la transformation fromagère, car ils présentent un certain nombre de caractéristiques différentes telles que : richesse et composition en caséines, équilibres salins, teneur en lactose, qualité hygiénique, pH, etc. Ces caractéristiques conditionnent leur aptitude à la déstabilisation, nécessaire pour passer de l'état liquide à l'état solide ainsi que les propriétés du coagulum.

Afin de s'affranchir des variations de la teneur en protéines des laits et d'améliorer l'aptitude à la coagulation qui a une influence sur le rendement fromager et la qualité des fromages, les industriels ont la possibilité de régler le taux protéique des laits entre 30 et 42 $g{\cdot}L^{-1}$ à l'aide de différentes techniques : élimination de l'eau par

évaporation ou osmose inverse, concentration par nanofiltration, par ultrafiltration (la plus utilisée), par microfiltration ou par ajout de caséinates.

Afin de satisfaire le rapport « gras/matière sèche » défini selon le type de fromages, les industriels standardisent le lait mis en œuvre en matière grasse en tenant compte de la composition protéique du lait. La mise en œuvre d'une masse m_{LS} de lait standardisé en matière grasse (MG_{LS}) et protéines (P_{LS}) permet, connaissant le rendement fromager et les coefficients de récupération de ces constituants dans le fromage (cf. § 3.5.3.), d'obtenir une masse de fromage m_F aux caractéristiques attendues (teneur en matière grasse MG_F, teneur en protéines P_F ; figure 20).

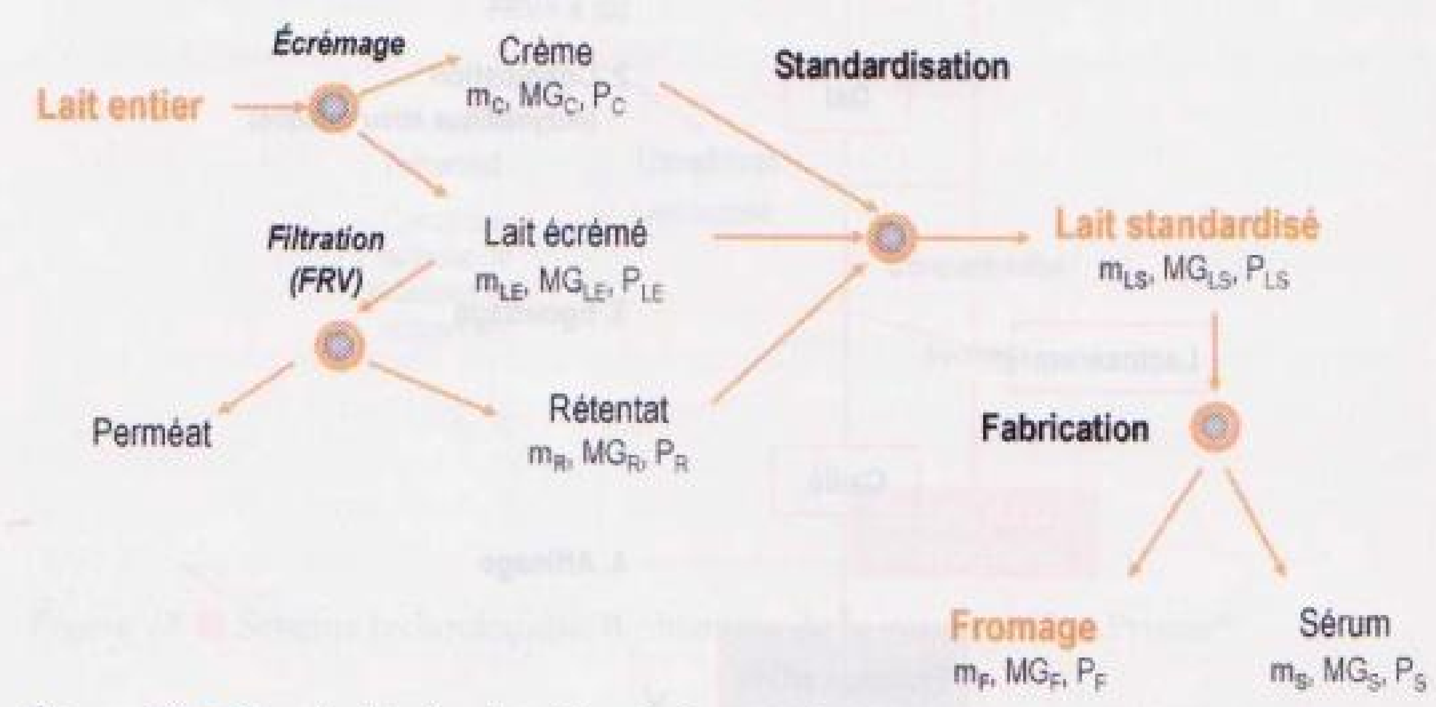


Figure 20 ■ Standardisation des laits de fromagerie en matière grasse et protéines.

Pour corriger les variations des teneurs en calcium du lait au cours du stade de lactation ou les modifications de l'équilibre du calcium entre la phase soluble et colloïdale dues aux effets de la réfrigération ou du traitement thermique, les industriels ajoutent du $CaCl_2$ à une dose variant entre 80 et 200 $mg \cdot L^{-1}$ de lait, améliorant ainsi l'aptitude à la coagulation du lait.

Pour respecter les temps technologiques et le degré de minéralisation du caillé selon le type de fromage recherché, les industriels ajustent le pH d'emprésurage, soit par maturation biologique, soit par addition de glucono-δ-lactone ou injection de CO_2, ou encore par apport de protéines sériques acides.

Un abaissement de la teneur en lactose du lait, par lavage du caillé ou par ultrafiltration du lait suivie d'une diafiltration avant coagulation, est recherché dans certains types de fromages à pâtes dites « stabilisées ».

La standardisation biologique par traitement thermique, bactofugation ou microfiltration, suivie de l'addition d'une flore contrôlée permet de s'affranchir de la flore originelle des laits réfrigérés pouvant présenter une flore indésirable (psychrotrophes, germes pathogènes) ; une prématuration à basse température (10-12 °C) en favorisant la production de facteurs de croissance permet d'améliorer le déroulement de la fermentation lactique.

3.4.2. Coagulation

On distingue trois types de coagulation (figure 21).

3.4.2.1. Coagulation acide

Elle consiste à précipiter les caséines à leur point isoélectrique ($pH_i = 4,6$) par acidification biologique à l'aide de ferments lactiques qui transforment le lactose en acide lactique ou par acidification chimique (injection de CO_2, addition de glucono-δ-lactone ou ajout de protéines sériques à pH acide). La voie chimique (acide organique) est uniquement utilisée en France pour la standardisation du pH du lait avant emprésurage. L'addition d'acide minéral n'est quant à elle pas autorisée.

Ce type de gel de par la solubilisation du phosphate de calcium colloïdal au cours de l'acidification présente une bonne perméabilité mais une friabilité élevée ; le manque de structuration du réseau (liaisons de faibles énergies de type hydrophobe) a pour conséquences une élasticité et une plasticité pratiquement nulles et une faible résistance aux traitements mécaniques.

3.4.2.2. Coagulation par voie enzymatique

Elle consiste à transformer le lait de l'état liquide à l'état de gel par action d'enzymes protéolytiques, le plus souvent d'origine animale.

On distingue trois phases :

- phase primaire ou enzymatique, décrite précédemment et correspondant à l'hydrolyse de la caséine κ au niveau de la liaison phénylalanine (105) et méthionine (106) ;
- phase secondaire ou d'agrégation des micelles déstabilisées, qui, à pH 6,6, commence lorsque 80 à 90 % de la caséine κ est hydrolysée ;
- phase tertiaire ou phase de réticulation conduisant à la formation du gel.

Plusieurs facteurs tels que la concentration en enzyme, la température, le pH, la teneur en calcium, la teneur et la composition en caséines, la dimension des micelles et les traitements préalables du lait (refroidissement, traitement thermique et homogénéisation) influent sur le déroulement de la coagulation et les caractéristiques du coagulum.

Le réseau formé à pH 6,6 est fortement minéralisé compte tenu des interactions entre le calcium et les caséines ; ce type de coagulum a tendance à se rétracter ce qui se manifeste par une expulsion du sérum.

3.4.2.3. Coagulation mixte

Elle résulte de l'action conjuguée de la présure et de l'acidification. La multitude de combinaisons conduisant à différents états d'équilibres spécifiques est à l'origine de la grande diversité des fromages à pâte molle et à pâte pressée non cuite.

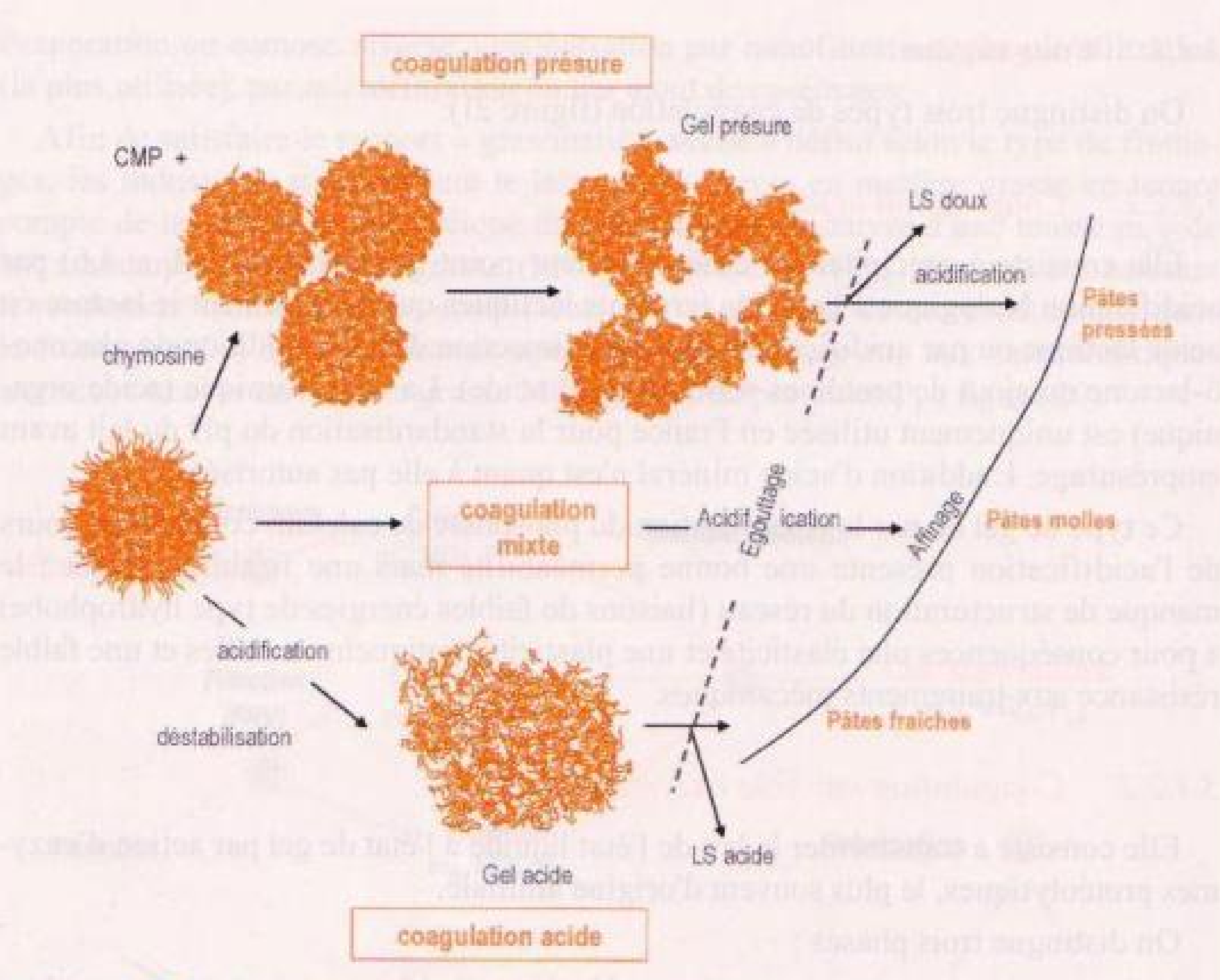


Figure 21 ■ Types de coagulation et diversité fromagère.

3.4.3. Égouttage

3.4.3.1. Facteurs d'égouttage des gels lactique et présure

Cette phase consiste en l'élimination plus ou moins grande du lactosérum emprisonné dans les mailles du gel formé par voie acide et/ou enzymatique. Elle commence dans les cuves de coagulation, puis se poursuit dans les moules et enfin en hâloirs. Il est possible d'exprimer le débit volumique de lactosérum expulsé $\dot{V}$ en fonction de la loi de Darcy (cf. chapitre 9, § 1.2.2.) :

$$\dot{V} = \frac{A}{R} \cdot \frac{\Delta P}{\eta} \quad [4]$$

où ΔP est la différence de pression s'exerçant sur le gel (Pa), η la viscosité du lactosérum (Pa.s), R la résistance hydrodynamique du gel (m^{-1}) et A la surface du gel (m^2).

En conséquences, l'élimination du sérum dépend :

– de la nature du coagulum, qui conditionne notamment sa perméabilité (terme $\frac{1}{R}$ de l'équation [4]) ; la porosité du gel diminue au cours de l'acidification (augmentation de R), mais ce phénomène est compensé par la baisse de capacité de rétention d'eau des protéines à l'approche de leur pH_i ;

– de l'intensité du travail en cuve, qui consiste à trancher le gel (augmentation de A), à brasser le gel tranché afin d'éviter qu'il ne se ressoude (maintien de A) et à chauffer le coagulum (diminution de η ; apport d'énergie permettant de renforcer l'organisation et la contractabilité du gel, conduisant à un accroissement du terme ΔP) ;
– de l'étape de pressage postérieure au moulage (augmentation de ΔP) qui permet d'éliminer le sérum interparticulaire et renforce la cohésion du caillé dans le cas des pâtes pressées.

La cinétique d'expulsion du lactosérum en moule peut être décrite par l'équation [35] (cf. chapitre 9, § 1.2.2.). Dans ce cas, la résistance à l'écoulement augmente du fait de l'obstruction des perforations des moules par les grains de caillé, ce qui peut nécessiter le retournement régulier du fromage afin de favoriser la cinétique d'égouttage.

L'égouttage spontané d'un gel lactique est lent et limité, il conduit à un caillé hétérogène, présentant des teneurs en matières sèches peu élevées et un faible niveau de minéralisation : le réseau peu réticulé ne subit qu'une faible contraction. Des procédés tels que la centrifugation ou l'ultrafiltration du caillé permettent d'accélérer notablement l'égouttage, en comparaison des procédés traditionnels (égouttage en faisselle, en sac ou filtre berge). L'application au lait de fabrication d'un traitement thermique intense (jusqu'à plusieurs minutes à 85-95 °C) permet d'accroître les rendements fromagers par dénaturation et rétention des protéines sériques ; en contrepartie, cette opération ainsi que l'homogénéisation limitent la vitesse et l'intensité de l'égouttage.

Le gel présure présente une forte cohésion, élasticité et porosité mais une perméabilité faible, conduisant à un égouttage spontané limité. C'est pourquoi il est nécessaire de mettre en œuvre différentes opérations de travail en cuve (tranchage, brassage, chauffage lent et régulier jusqu'à 56 °C) pour permettre l'égouttage du gel. Ces traitements sont d'autant plus intenses que l'extrait sec recherché dans le fromage est élevé ; en contrepartie, ces opérations diminuent le rendement fromager et les coefficients de récupération des constituants dans le fromage.

3.4.3.2. *Bilan matière, rendements et taux de récupération*

Lors de la transformation du lait en fromage, il est possible de formaliser le bilan matière pour un constituant X (protéines, matière grasse, etc.) par le système d'équation :

$$\begin{cases} m_L \cdot X_L = m_F \cdot X_F + m_S \cdot X_S \\ m_L = m_F + m_S \end{cases} \qquad [5]$$

Où m_L, m_F et m_S et X_L, X_F et X_S désignent respectivement les masses (kg) de lait, de fromage et de sérum et les concentrations du constituant X dans le lait, le fromage et le sérum ($g{\cdot}kg^{-1}$). Le rendement fromager R_F (sans dimensions) est exprimé en kg de fromages pour 100 kg de lait mis en œuvre

$$R_F = \frac{m_F}{m_L} \cdot 100 \qquad [6]$$

En combinant [5] et [6], on obtient :

$$R_F = \frac{X_L - X_S}{X_F - X_S} \cdot 100 \quad [7]$$

À titre d'exemple, si 50 kg de lait à 32 g·kg⁻¹ de protéines donnent 6,7 kg de fromage et 43 kg de sérum respectivement à 185 g·kg⁻¹ et 8,5 g·kg⁻¹ de protéines, le rendement fromager R_F est égal à 13,3 %. Afin d'uniformiser le calcul du rendement fromager, les technologues ont souvent recours au calcul du rendement correspondant à un fromage de référence ; ce rendement corrigé (R_{FC}) est :

$$R_{FC} = \frac{X_L - X_S}{X_{réf} - X_S} \cdot 100 = R_F \cdot \frac{X_F - X_S}{X_{réf} - X_S} \cdot 100 \quad [8]$$

Où $X_{réf}$ désigne la concentration du constituant X dans un fromage de référence.

Pour une fabrication donnée, il est également possible de calculer le taux de récupération T_X d'un constituant X dans le fromage selon :

$$T_X = \frac{m_F \cdot X_F}{m_L \cdot X_L} \cdot 100 \quad [9]$$

Dans l'exemple précédent (50 kg de lait à 32 g·kg⁻¹ de protéines donnent 6,7 kg de fromage à 185 g·kg⁻¹ de protéines), le taux de récupération des protéines T_{prot} est ainsi de 77,5 %.

3.4.3.3. Cinétiques d'égouttage et d'acidification : diversité fromagère

Les caractéristiques physico-chimiques des fromages au démoulage (extrait sec dégraissé – ESD, teneur en matière grasse, pH, humidité du fromage dégraissé – HFD, calcium sur extrait sec dégraissé – Ca/ESD), qui conditionnent le déroulement de l'affinage en orientant la croissance microbienne et les cinétiques des réactions enzymatiques et biochimiques, sont dépendantes de l'intensité et de la position relative des phases d'égouttage et d'acidification (figure 22).

L'humidité du fromage dégraissé (HFD ; sans dimension), qui exprime la disponibilité de l'eau dans le caillé, est calculée selon :

$$HFD = \frac{100 - EST_F}{100 - MG_F} \cdot 100 \quad [10]$$

Où EST_F et MG_F sont les teneurs en extrait sec et matière grasse du fromage, respectivement.

On peut ainsi distinguer quatre grandes classes de fromages :

- *les caillés lactiques,* de type pâte fraîche : ils sont très humides ; dans ce cas, l'acidification du substrat laitier précède l'égouttage : celui-ci est réalisé à pH acide (4,5-5), dans des conditions où plus de 80 % du calcium et des phosphates sont solubilisés. Sa mise en œuvre conduit par conséquent à une déminéralisation marquée du fromage, qui accentue ses caractéristiques friable et cassante ;
- *les caillés présure* de type pâte dure et pâte pressée cuite : la technologie consiste à forcer l'égouttage après coagulation présure en utilisant les leviers

offerts par le travail en cuve. L'égouttage précède donc l'acidification, qui intervient alors dans un milieu appauvri en lactose et dont le pouvoir tampon est très largement renforcé du fait de la concentration des protéines et minéraux (ESD jusqu'à 30 à 35 %). De ce fait, le pH final de la pâte est généralement de l'ordre de 5,2-5,4, et sa teneur en calcium très supérieure aux autres types de fromages (2,9 < Ca / ESD < 3,1 %). Ces caractéristiques conduisent à une texture souple et cohésive ; leur faible valeur d'HFD autorise des durées de conservation de plusieurs mois ;

– *les caillés mixtes à dominante lactique* (pâtes molles traditionnelles et industrielles) ; ils sont humides (HFD de l'ordre de 75 %), relativement acides (pH 4,6-4,8) et déminéralisés. La durée de vie de ces produits n'excède pas quelques semaines ;

– *les caillés mixtes à dominante présure* (pâte molle stabilisée, pâte pressée non cuite ou demi-cuite) ; ils résultent d'un égouttage plus prononcé que dans le cas précédent auquel peut être associée une étape de délactosage : le pH final est de l'ordre de 4,8-5,2 et la pâte reste assez minéralisée. La durée de conservation de ces fromages est de plusieurs semaines, en fonction de l'HFD (60 à 72 %).

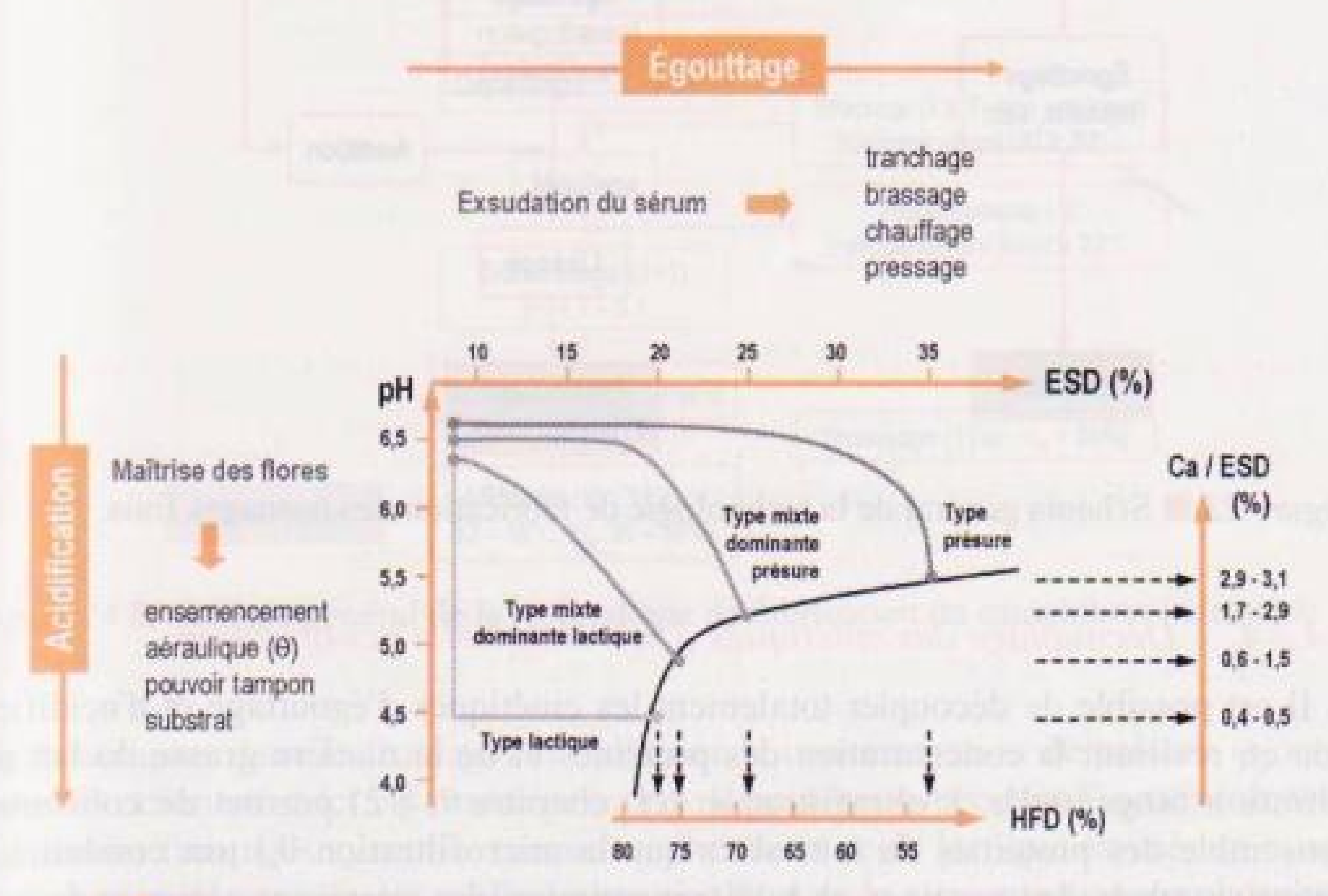


Figure 22 ■ Cinétiques d'égouttage et d'acidification et diversité technologique (d'après Mietton, 1991).

Les figures suivantes donnent des exemples de technologies correspondant à la fabrication de caillés de type lactique (fromage frais ; figure 23), mixte à dominante lactique (camembert industriel ; figure 24), mixte à dominante présure (saint-paulin ; figure 25) et présure (beaufort ; figure 26).

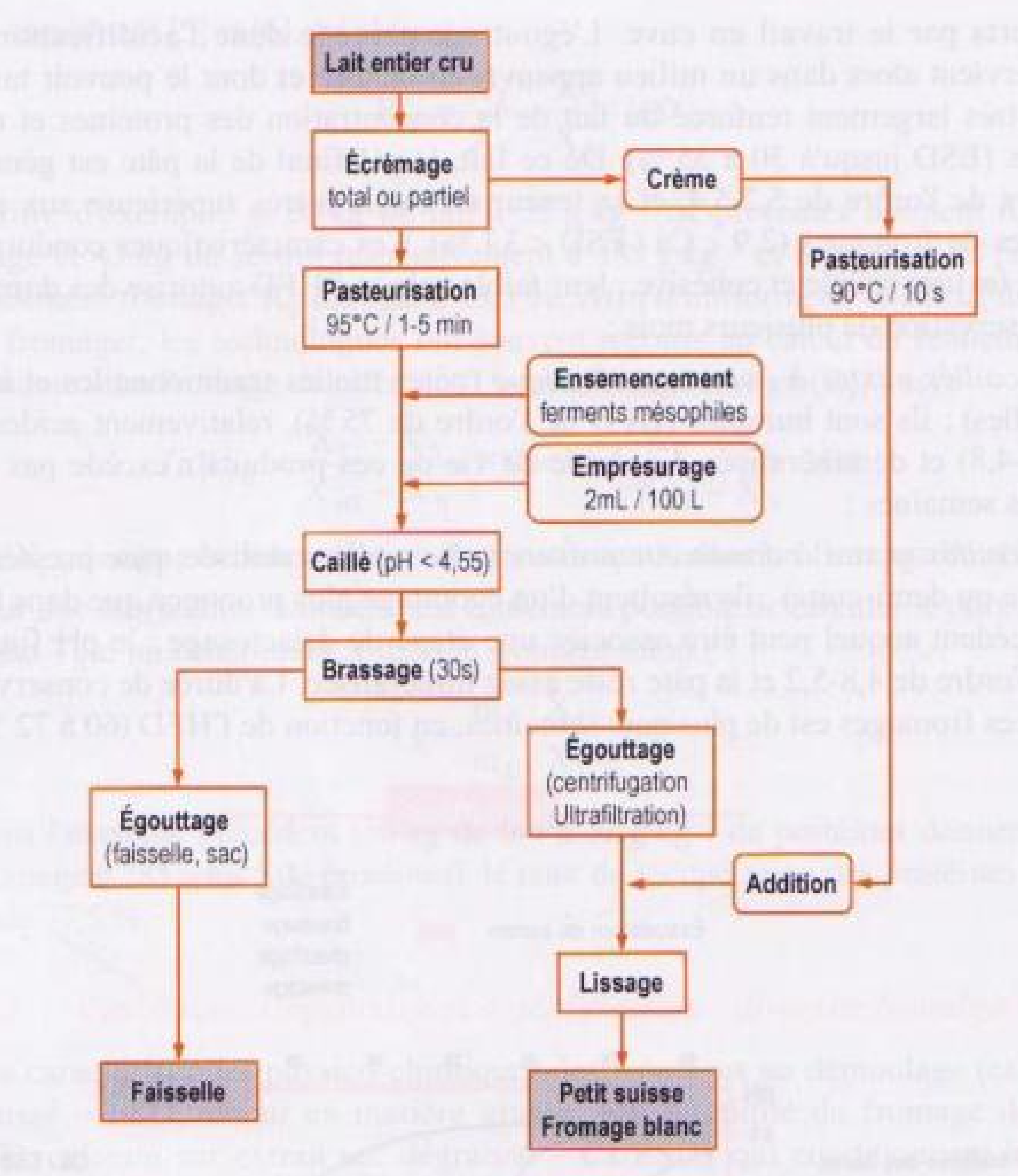


Figure 23 ■ Schéma général de la technologie de fabrication des fromages frais.

3.4.3.4. Découplage des cinétiques d'égouttage et d'acidification

Il est possible de découpler totalement les cinétiques d'égouttage et d'acidification en réalisant la concentration des protéines et de la matière grasse du lait par filtration tangentielle. L'ultrafiltration (cf. chapitre 9, § 2) permet de concentrer l'ensemble des protéines du lait, alors que la microfiltration 0,1 µm conduit à la rétention totale des caséines et à la transmission des protéines sériques dans le perméat (taux de transmission de 60 à 80 %) ; en conséquence, cette dernière n'est mise en œuvre que lorsque l'industriel cherche à valoriser le perméat, qui dans ce cas correspond à un lactosérum idéal (absence de phospholipides, de fines de caséines et d'éléments particulaires).

L'ultrafiltration du lait de fabrication permet d'obtenir un préfromage liquide ayant la composition du fromage égoutté (brevet Maubois, Mocquot, Vassal, 1969). Ce schéma de fabrication supprime la phase d'égouttage succédant à la phase de coagulation et permet donc dans certains cas le moulage direct dans le contenant de commercialisation ; un tel procédé permet de réduire les écarts de poids dus au moulage du caillé, d'augmenter les rendements (de 10 à 20 % par rétention des pro-

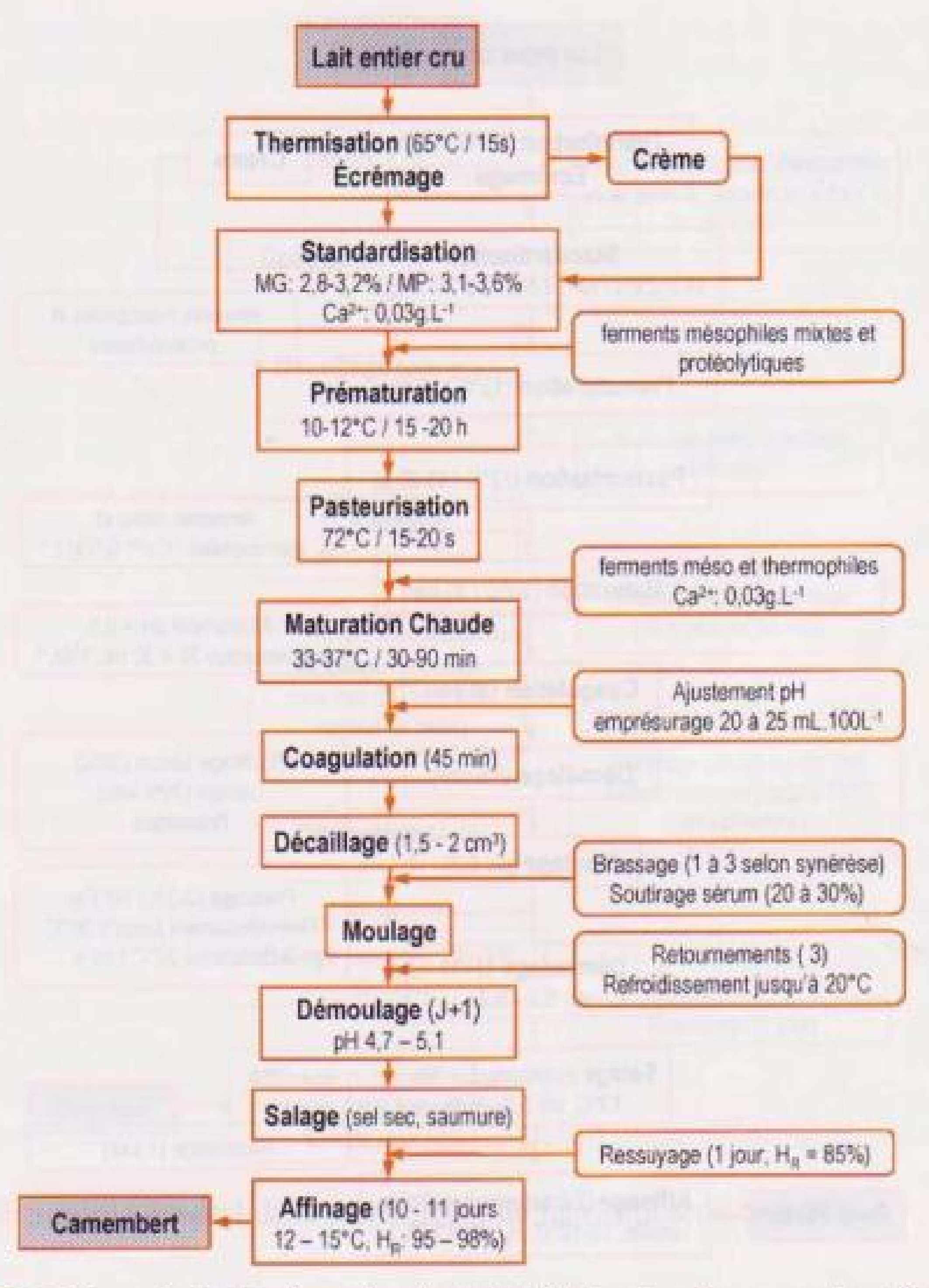


Figure 24 ■ Schéma général de la technologie de fabrication du camembert industriel.

téines sériques dans le fromage) et diminuer la consommation de présure (ajoutée après filtration au strict volume nécessaire). Il présente cependant l'inconvénient de donner des fromages ayant des teneurs en lactate et acide lactique élevées en raison du fort pouvoir tampon des préfromages résultant de la concentration du phosphate de calcium associé aux caséines. Pour remédier à ces défauts, il est possible de pré-acidifier et de saler le lait de fabrication, afin de solubiliser une partie du phosphate de calcium colloïdal, qui est ensuite éliminé lors de l'ultrafiltration. Cette voie reste toutefois limitée car le lait pré-acidifié est thermiquement moins stable et le perméat plus difficile à valoriser.

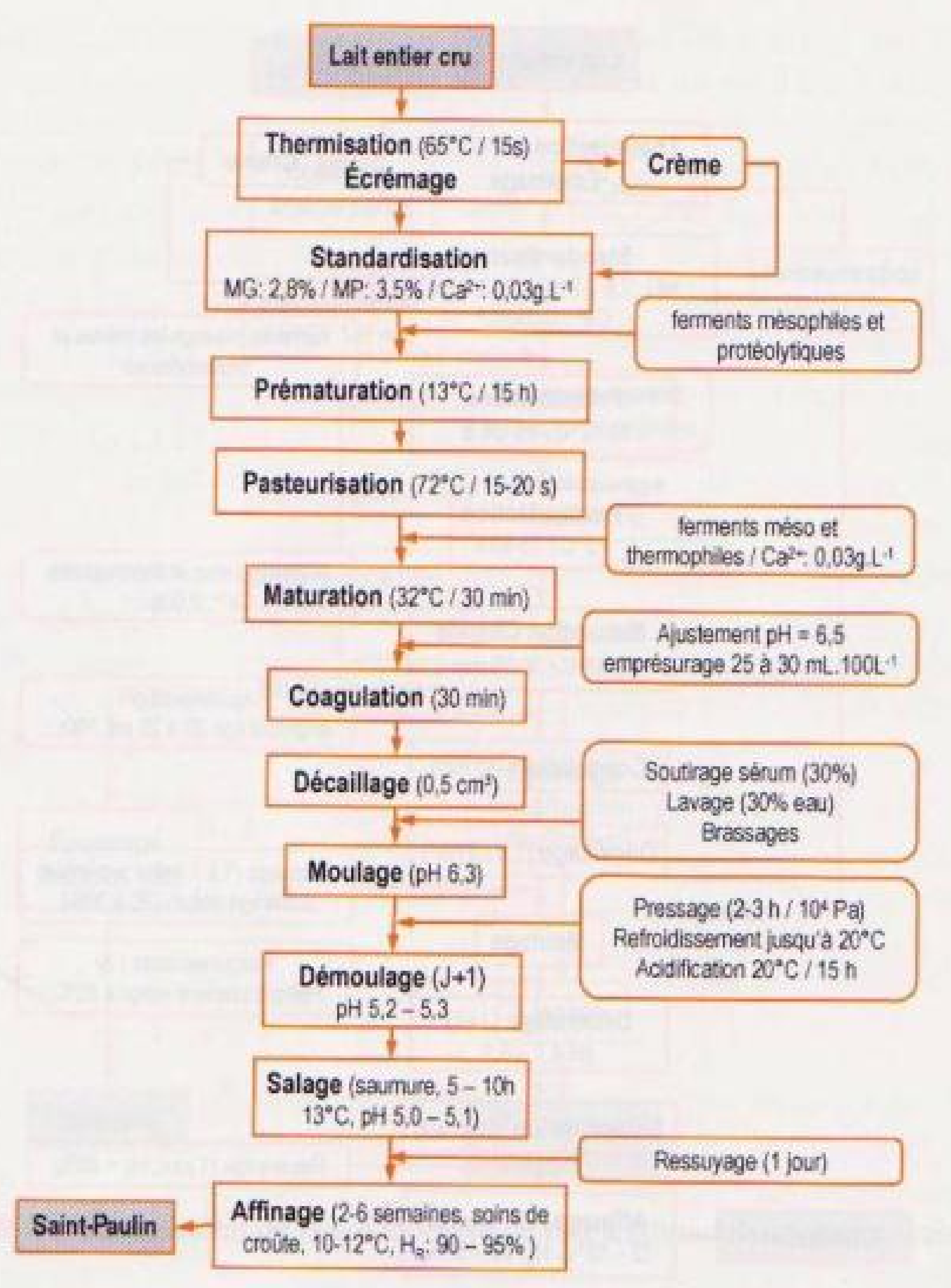


Figure 25 ■ Schéma général de la technologie de fabrication du Saint-Paulin.

3.4.4. *Affinage*

L'affinage correspond à une phase de digestion enzymatique des constituants protéiques et lipidiques du caillé. C'est un processus biochimique complexe pour plusieurs raisons :

– d'une part, la matrice fromagère issue de la coagulation et de l'égouttage du lait présente une très grande hétérogénéité physico-chimique ;

– d'autre part, les enzymes intervenant dans l'affinage ont plusieurs origines : il peut s'agir d'enzymes endogènes du lait (plasmine, lipase, etc.), ajoutées au lait au cours de la fabrication (enzymes coagulantes, micro-organismes) ou produites au cours de l'affinage par synthèse microbienne (bactéries, levures, moisissures).

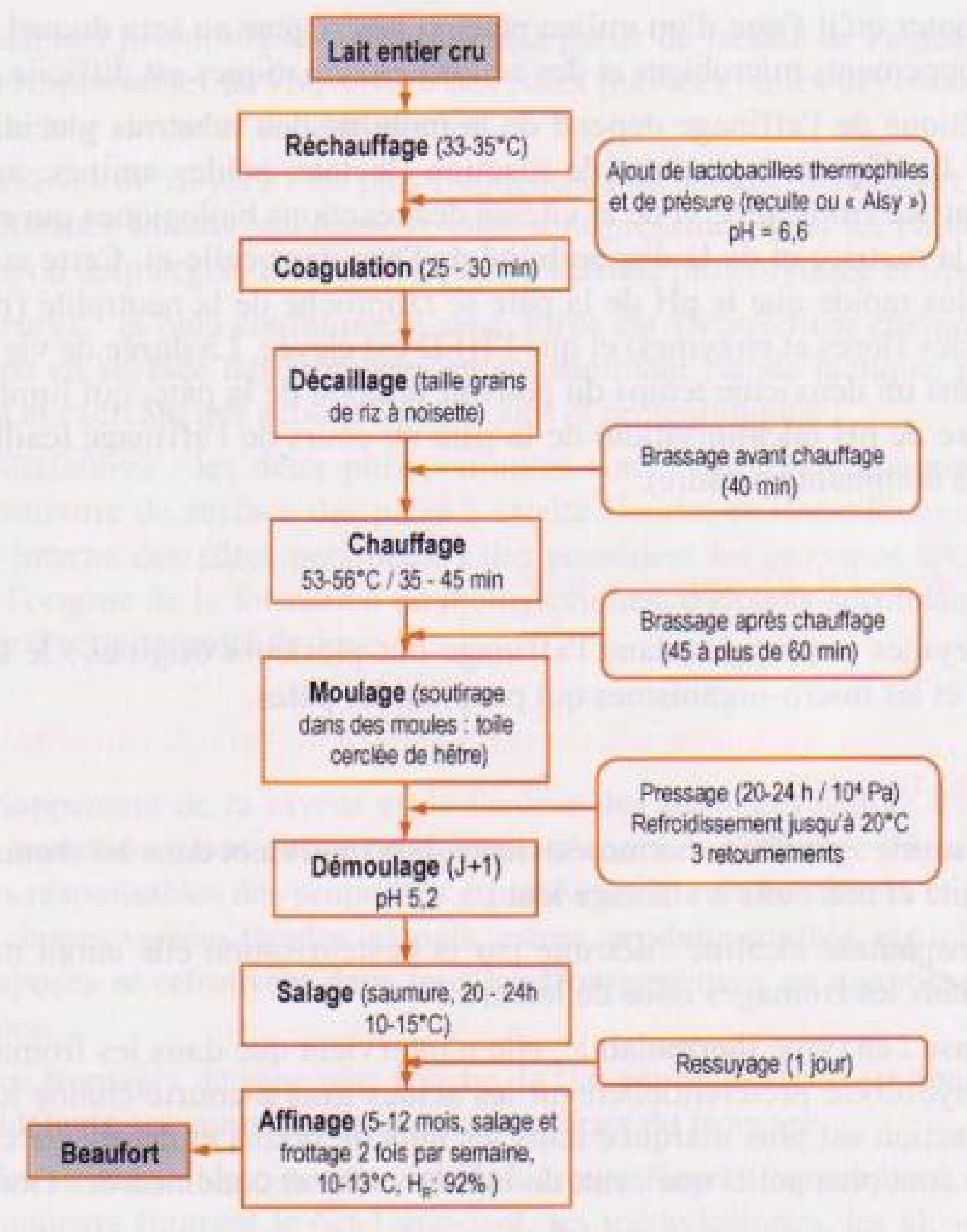


Figure 26 ■ Schéma général de la technologie de fabrication du beaufort.

L'ensemble caillé et agents biologiques est un écosystème complexe et un bio-réacteur hétérogène dont les paramètres ne sont pas toujours bien définis. L'affinage est dominé par trois grands phénomènes biochimiques :

– la fermentation du lactose résiduel et consommation du lactate ;

– l'hydrolyse de la matière grasse et des protéines ;

– la production d'arôme à partir des acides gras et acides aminés.

Ces transformations confèrent à la pâte fromagère des caractères nouveaux ; elles la modifient dans son aspect, dans sa composition, dans sa consistance. Simultanément, saveur, arôme et texture se développent.

3.4.4.1. Substrats

Les caractères physico-chimiques des caillés soumis à l'affinage varient avec le type de fabrication. Si la composition des caillés peut être précisée, leur structure physico-chimique, en revanche, reste mal définie.

Il faut noter qu'il s'agit d'un milieu pâteux, hétérogène au sein duquel le contrôle des développements microbiens et des actions enzymatiques est difficile.

La cinétique de l'affinage dépend de la mobilité des substrats glucidiques, protéiques et lipidiques et produits de réaction (lactate, acides aminés, acides gras) dans la matrice fromagère, et de la vitesse des réactions biologiques qui est fonction du pH de la matrice et de la disponibilité de l'eau dans celle-ci. Cette cinétique est d'autant plus rapide que le pH de la pâte se rapproche de la neutralité (pH optimal d'activité des flores et enzymes) et que l'HFD est élevée. La durée de vie du produit dépend dans un deuxième temps du pouvoir tampon de la pâte, qui limite et régule la remontée de pH (alcalinisation) de la pâte au cours de l'affinage (caillés présure et mixtes à dominante présure).

3.4.4.2. Agents d'affinage

Les enzymes impliquées dans l'affinage ont plusieurs origines : le lait, l'agent coagulant et les micro-organismes qui peuplent les pâtes.

▶ ENZYMES DU LAIT

– la plasmine : protéase thermorésistante, elle intervient dans les fromages à pâte pressée cuite et non cuite à affinage lent ;

– la phosphatase alcaline : détruite par la pasteurisation elle aurait un rôle uniquement dans les fromages issus de lait cru ;

– la lipase : enzyme thermolabile, elle n'intervient que dans les fromages au lait cru. Elle hydrolyse préférentiellement les acides gras à courte chaîne localisés en Sn3. Son action est plus marquée dans les laits de brebis et de chèvre car les globules gras sont plus petits que ceux du lait de vache et conduit à des fromages plus typés.

▶ ENZYMES COAGULANTES

La présure (mélange de chymosine et pepsine), agent coagulant ajouté au lait a une activité de protéolyse générale. Son activité est dominante dans les fromages à pâte pressée non cuite. Les produits formés sont principalement des peptides de poids moléculaire élevé.

▶ ENZYMES D'ORIGINE MICROBIENNE

Ces enzymes proviennent de cinq principaux groupes microbiens.

• *Les bactéries lactiques* : apportées par les levains, elles transforment le lactose en acide lactique. On distingue :

- les lactocoques : flore dominante dans les pâtes molles et pâtes pressées non cuites, ils ont une action protéolytique ;
- les lactobacilles et streptocoques thermophiles : flore des pâtes pressées cuites ils exercent une action d'acidification et de protéolyse ;
- les *Leuconostoc* : ils produisent à côté de l'acide lactique, des composants d'arôme et participent à l'ouverture des fromages à pâte persillée.

• *Les bactéries propioniques* : produisent à partir du lactate de l'acide propionique et sont responsables de l'ouverture des pâtes pressées cuites et contribuent à la formation de leur saveur et de leur arôme ;

• *Les bactéries de surface* : les plus fréquentes sont les microcoques et les bactéries corynéformes (*Bacterium linens*) ; elles sont présentes dans les pâtes molles à croûte lavée ou emmorgée. Elles sont dotées d'activité protéolytique et lipolytique ;

• *Les levures :* la plus couramment rencontrée est *Geotrichum candidum*, ; elle se développe en surface des fromages en consommant l'acide lactique, produisant de l'éthanol et exerçant des actions lipolytiques et protéolytiques ;

• *Les moisissures :* les deux plus courantes sont *Penicillium camemberti*, qui est une moisissure de surface des pâtes à croûte fleurie, et *Penicillium roqueforti*, moisissure interne des pâtes persillées. Elles possèdent les enzymes les plus lipolytiques, à l'origine de la formation de méthylcétones, d'alcools secondaires et sont aussi dotées d'activité protéolytique.

3.4.4.3. *Influence de l'affinage sur la flaveur des fromages*

Le développement de la saveur et de l'arôme des fromages résulte d'un certain nombre de transformations qui se produisent au cours de l'affinage (figure 27). Les composants responsables des propriétés gustatives sont très nombreux et appartiennent à des classes variées (acides, alcools, esters, produits soufrés, etc.). La plupart de ces composés se retrouvent dans tous les fromages mais en quantité et proportion variables.

• Dans les fromages de type pâte fraîche, la flaveur développée est due à l'acidité et à l'acétaldéhyde qui contribuent au caractère frais du fromage.

• Dans les fromages de type pâte molle à croûte fleurie (camembert), parmi les composés majeurs figurent le oct-1-ène-3-ol, les méthylcétones, les alcools secondaires, des composés phénoliques (phényléthanol et ses esters), ainsi que divers composés soufrés volatils à odeur aillée.

• Dans les fromages de type pâte molle à croûte lavée (pont l'évêque, munster), les bactéries de surface (corynébactéries et micrococcacées) dégradent les acides aminés en composés soufrés (méthanethiol et thioesters).

• Dans les fromages à pâte persillée, on observe une forte proportion d'acides gras libres, de méthylcétones, d'alcools secondaires et de lactones.

• Dans les fromages à pâte pressée (cheddar), certains auteurs attribuent la note aromatique de fond aux acides gras courtes chaînes (C_2 à C_6), aux méthylcétones et les alcools correspondants.

• Dans les fromages à pâte pressée cuite, la flaveur est donnée par les acides aminés, l'acide acétique, l'acide propionique, les alcools, les esters et les produits soufrés.

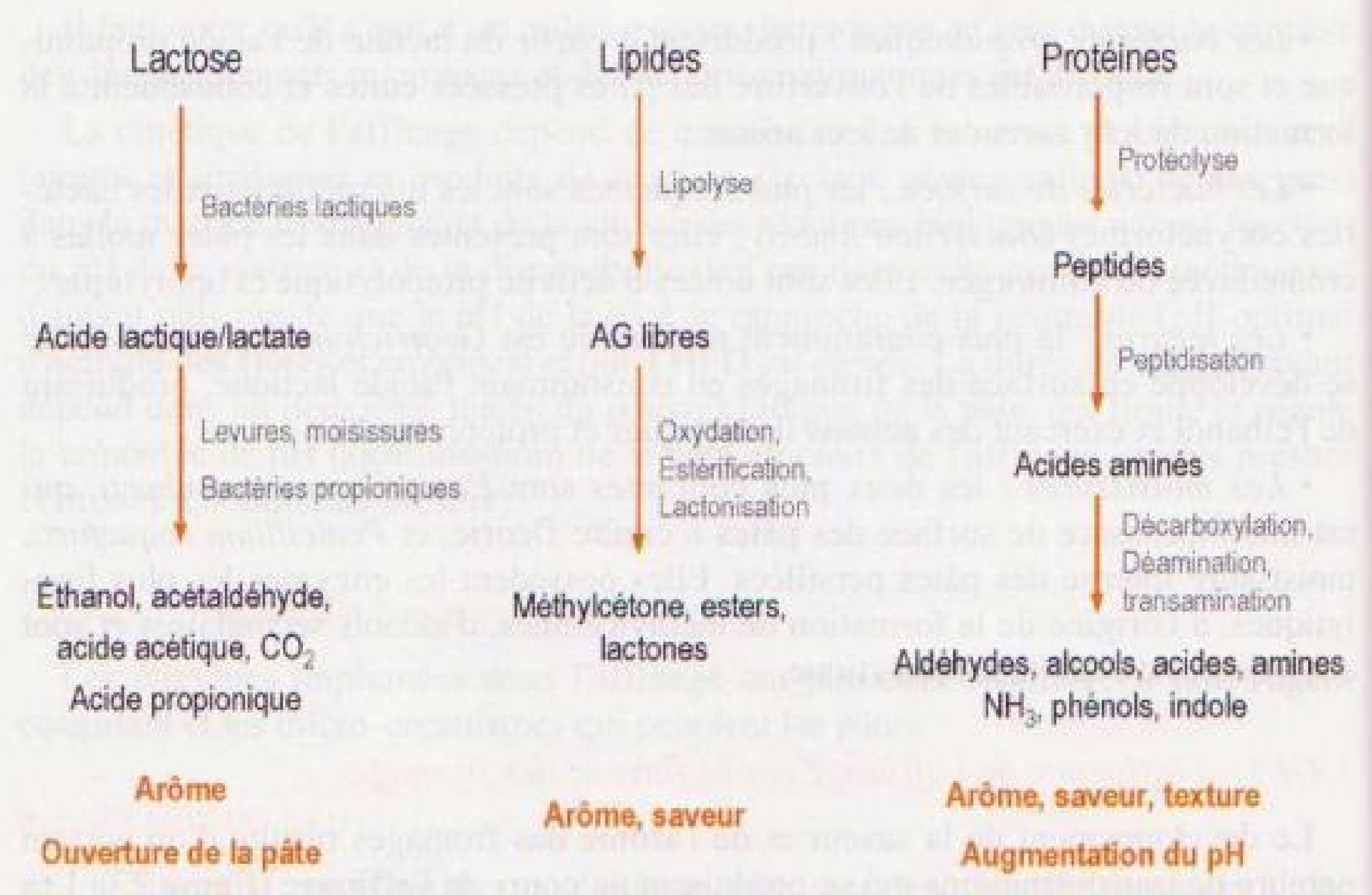


Figure 27 ■ Évolution des constituants au cours de l'affinage.

3.4.5. Accidents de fromagerie et défauts des fromages

Compte tenu de la diversité et de la complexité des technologies, le fromager doit faire face à des risques d'accidents qui se traduisent par des défauts sur le produit fini. Ces défauts peuvent être classés en deux catégories : les défauts de coagulation et d'égouttage et les défauts d'affinage.

3.4.5.1. Défauts de coagulation et d'égouttage

Le développement des bactéries lactiques a un rôle essentiel en technologie fromagère. Elles agissent comme agent d'acidification, donc de coagulation, d'égouttage et d'ajustement du degré de minéralisation de la pâte de fromage.

L'aptitude du lait à permettre le développement des bactéries lactiques varie avec l'origine du lait et avec l'espèce bactérienne. Il existe dans le lait un certain nombre de facteurs naturels inhibiteurs (immunoglobulines, lactopéroxydase, lysozyme, lactoferrine, nisine, acides gras libres, leucocytes, etc.) et stimulateurs tels que les facteurs de croissance (vitamines du groupe B, acides aminés, bases azotées, petits peptides, protéose peptones). L'application de traitements thermiques au lait peut d'une part détruire les inhibiteurs naturels comme les facteurs de croissance, et d'autre part générer des facteurs de croissance tels que des peptides, acides aminés, acide formique, etc. D'autres facteurs exogènes au lait tels que bactériophages ou antibiotiques ou résidus chimiques peuvent être à l'origine d'une inhibition de la flore lactique.

Enfin, le lait selon sa composition physico-chimique et bactériologique (laits de mammite, de début ou de fin de lactation) ou selon les traitements technologiques qu'il a subis (laits réfrigérés, laits traités thermiquement, etc.) peut présenter des

défauts de coagulation : allongement du temps de prise, diminution de la vitesse de raffermissement, formation d'un gel mou avec diminution du rendement fromager.

3.4.5.2. *Défauts d'affinage*

On peut classer les défauts rencontrés au cours de l'affinage en trois catégories :

• Défauts de texture et gonflements : ces défauts peuvent avoir des origines technologiques (pâte sèche, coulante, fromage lainé, sans ouverture ou trop ouvert, etc.) ou microbiologiques (gonflements précoces ou tardifs).

• Défauts d'aspect (croûtage et moisissures indésirables) : ils peuvent être d'origine fongique à la surface des fromages (accidents du « bleu », du « poil de chat », de la « peau de crapaud »), ou d'origine fongique et bactérienne à la surface et à l'intérieur de la pâte (chancre, tâches orangées, crème, rosée, brunâtre, blanchâtre, rouge des tablards, etc.).

• Défauts de saveur et d'arôme. Parmi ceux-ci, on distingue :

- les défauts d'amertume, fréquemment rencontrés dans les fromages de type pâte pressée, bleu et pâte molle. Les caséines (notamment la caséine β fortement hydrophobe) sont à l'origine de la formation de peptides amers sous l'action de la présure résiduelle, de la plasmine, des *Penicillii*, des germes psychrotrophes et de certains levains qui acidifient rapidement ;
- le goût de rance résulte d'une lipolyse excessive qui donne naissance à une quantité élevée d'acides gras libres à chaîne courte et moyenne. Les agents responsables sont certains *Penicillii*, les bactéries psychrotrophes, les lipases naturelles ou d'origine microbienne (germes contaminants, thermorésistants, levains...) ;
- les autres défauts de flaveur, parmi lesquels on peut citer l'odeur de crucifères, de champignon, de pomme de terre, de malt, de celluloïde, etc. Leurs origines et les mécanismes de leur formation sont diverses et difficiles à établir.

En conclusion, la préparation des laits est une étape importante, car elle a un rôle déterminant sur le déroulement des fabrications fromagères. Grâce au développement de la connaissance scientifique au cours de ces 30 dernières années, les différentes étapes de la transformation du lait en fromage sont mieux maîtrisées : il existe une constante évolution des caractéristiques chimiques, physico-chimiques et physiques des produits qui montrent une extraordinaire variété et complexité des réactions notamment au cours de l'affinage. Cependant, il reste encore à approfondir les connaissances des mécanismes physico-chimiques et microbiologiques intervenant dans les différentes étapes de la fabrication fromagère. Des recherches sont actuellement en cours pour essayer de comprendre, à l'aide de systèmes modèles bien caractérisés, pourquoi certaines textures peuvent modifier la perception de la flaveur associée à une fraction aromatique donnée.

3.5. Crèmes et beurres

Les crèmes et les beurres sont des produits laitiers dont la teneur en matière grasse est supérieure à celle du lait ; à l'exception des produits allégés, la teneur

en matière grasse des crèmes est supérieure à 30 % et celle des beurres d'au moins 80 %. Ainsi l'élaboration des crèmes et des beurres débute par une étape de concentration de la fraction grasse du lait. Celle-ci s'effectue par écrémage centrifuge dans des écrémeuses hermétiques constituées d'assiettes tronconiques (cf. chapitre 10, premier volume). L'écrémage est généralement réalisé à une température comprise entre 40 et 45 °C.

3.5.1. Crèmes

Les crèmes peuvent être fluides (crèmes fleurettes), épaisses (crèmes maturées) ou encore foisonnées (crèmes fouettées). Les crèmes fluides ont reçu soit un traitement de pasteurisation (crème fraîche) soit un traitement de stérilisation UHT. Les crèmes épaisses sont obtenues après ensemencement d'une crème pasteurisée par des ferments lactiques spécifiques. Les crèmes fouettées sont obtenues par introduction d'air dans une crème pasteurisée ou stérilisée lors d'un foisonnement approprié à basse température (en général entre 4 et 10 °C).

3.5.1.1. Homogénéisation et traitements thermiques

Sortie écrémeuse, les crèmes sont soumises à une homogénéisation en phase montante du traitement thermique afin d'améliorer leur stabilité au stockage (crémage dans les crèmes fluides, exsudation du sérum dans les crèmes épaisses, etc.) ou leur fonctionnalité (viscosité des crèmes, stabilité à la cuisson, propriété de foisonnement, etc.). Dans les crèmes, la quantité de protéines disponibles (caséines, protéines sériques) pour la création d'interface au cours de l'homogénéisation est souvent limitante. De ce fait, elles se positionnent à l'interface de globules gras voisins, conduisant à la formation d'agrégats favorable au crémage. Pour limiter ce phénomène, l'homogénéisation des crèmes s'effectue avec des homogénéisateurs équipés de deux têtes d'homogénéisation placés en série. La pression d'homogénéisation du premier étage, de 13,5 à 20 MPa, sert à créer de l'interface et diminuer la taille des globules gras ; le deuxième étage réglé à une pression d'homogénéisation égale à 10 ou 20 % de celle du premier étage permet de dissocier les agrégats formés.

La crème homogénéisée est alors traitée thermiquement sur des échangeurs à plaques spécifiquement dimensionnés, se caractérisant par une surface d'échange environ trois fois supérieure à celle utilisée pour le traitement du lait en raison de coefficients de transfert plus faibles. De plus, les températures de traitement doivent être augmentées en raison d'une thermorésistance accrue des micro-organismes en présence de matière grasse : l'intensité du traitement thermique sera d'autant plus forte que la teneur en matière grasse est élevée ; dans le cas d'une pasteurisation, les couples [temps/température] appliqués sont de l'ordre de 50-10 s / 80-100 °C. Le traitement thermique est particulièrement délicat car les crèmes sont des émulsions très fragiles et les variations rapides de la température peuvent modifier profondément les propriétés de l'émulsion.

3.5.1.2. *Maturation des crèmes*

Les crèmes épaisses sont des crèmes maturées et acides. Leur élaboration nécessite l'ensemencement à hauteur de 0,5 % environ d'une crème pasteurisée par un levain lactique constitué d'une association de souches acidifiantes, aromatiques (*Lactococcus lactis* subsp. *lactis cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis diacethylactis*, *Streptococcus thermophilus*) et parfois épaississantes (*leuconostoc*) qui par production d'exopolysaccharides permettent d'obtenir des crèmes épaisses à des pH moins acides. La phase de maturation se déroule sur une durée de 12 à 18 h à une température comprise entre 12 et 22 °C. L'acidification entraîne la déstabilisation progressive des micelles de caséines qui en association avec les globules gras homogénéisés conduisent à un épaississement de la crème. Les modifications les plus significatives, dont l'accroissement de la viscosité, apparaissent pour des pH inférieurs à 5,0-5,2.

3.5.1.3. *Foisonnement*

Les crèmes fouettées sont des émulsions foisonnées dans lesquelles les bulles d'air sont intégrées dans un réseau de globules gras partiellement coalescés qui en présence d'émulsifiants (mono- et diglycérides) et de stabilisants (gélatine, carraghénanes, etc.) assurent la rigidité et la stabilité de la mousse.

Les crèmes destinées au foisonnement sont dans un premier temps homogénéisées ce qui permet d'augmenter le nombre de globules gras nécessaires à la couverture de l'interface à créer puis traitées thermiquement avant d'être conservées au froid (entre 4 et 10 °C) pendant plusieurs heures (une vingtaine d'heures) afin de favoriser la cristallisation de la matière grasse globulaire. Pendant la phase de maturation de la crème, les émulsifiants déplacent progressivement les protéines adsorbées à la surface des globules gras homogénéisés ce qui a pour conséquence de réduire leur stabilité (Goff, 1997). Au cours du foisonnement, la collision de globules gras déstabilisés dans la phase aqueuse favorise leur coalescence. Les globules gras homogénéisés partiellement coalescés se positionnent à l'interface air et forment un réseau stabilisant les bulles d'air. Par ailleurs, les stabilisants augmentent la viscosité de la phase aqueuse et limitent le drainage par interaction avec les protéines de la phase aqueuse et les protéines adsorbées sur les globules gras.

3.5.2. **Beurres**

Les beurres sont constitués d'une phase continue de matière grasse liquide dans laquelle sont dispersés des cristaux de triglycérides, des petits globules gras, des gouttelettes de phase aqueuse et des bulles d'air (figure 28). Ils s'obtiennent à partir d'une crème le plus souvent pasteurisée contenant entre 40 et 50 % de matière grasse qui est maturée puis barattée pour induire l'inversion de phase. La maturation correspondait à l'origine à deux opérations couplées :

- la maturation physique pour l'élaboration des caractéristiques rhéologiques des beurres ;
- la maturation biologique pour le développement de sa note aromatique.

Cette double maturation intervient dans les fabrications traditionnelles en baratte ou certaines fabrications en continu (procédé Fritz). Progressivement, ces techniques de fabrication ont été remplacées par la méthode NIZO, plus souple et économique, dans laquelle la maturation physique de la crème et l'élaboration des arômes et de l'acide sont découplées.

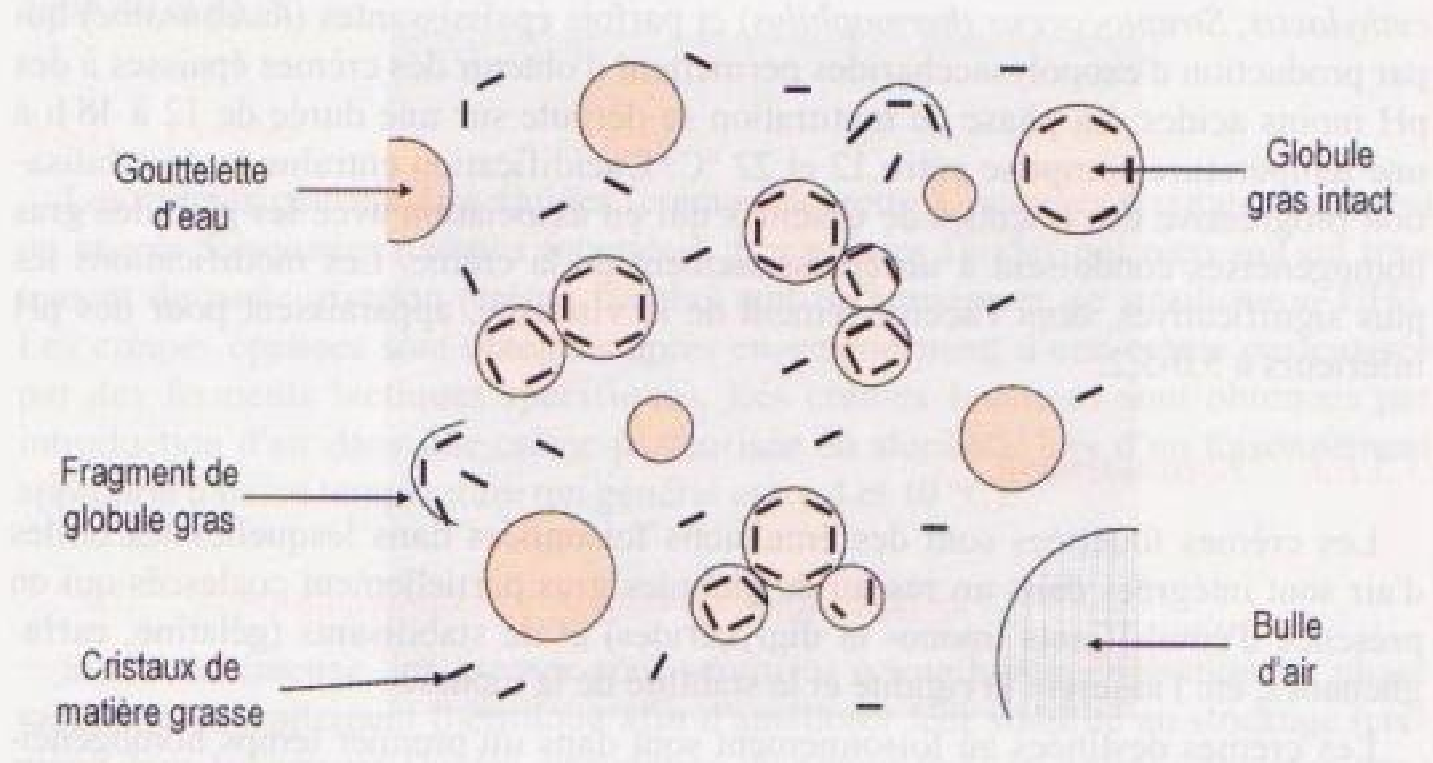


Figure 28 ■ Représentation schématique de la structure du beurre.

3.5.2.1. Maturation physique

La maturation physique de la crème a pour but d'induire une cristallisation partielle de la matière grasse favorisant l'inversion de phase. Par un contrôle rigoureux du cycle thermique, elle permet également d'adapter la consistance des beurres à la variabilité saisonnière et géographique de composition de la matière grasse laitière. Dans la pratique on distingue deux types de maturation :

- la maturation basse pour les crèmes d'hiver dans laquelle la crème est immédiatement refroidie à la température de 6-7 °C permettant la formation de nombreux petits cristaux de matière grasse ;
- la maturation haute pour les crèmes d'été dans laquelle les paliers de température sont adaptés pour l'obtention de gros cristaux de matière grasse.

À l'issue de la maturation physique le rapport de matière grasse solide et de matière grasse liquide est relativement stable. Ce rapport ainsi que la taille des cristaux conditionnent la tartinabilité des beurres.

3.5.2.2. Maturation biologique

La maturation biologique permet d'acidifier la crème et d'y développer un arôme marqué et typique, de favoriser l'inversion de phase par diminution du potentiel de surface des globules gras aux basses valeurs de pH et d'assurer une protection biologique vis-à-vis des micro-organismes pouvant dégrader le beurre. L'inconvénient majeur de la maturation biologique est qu'elle génère après barattage un coproduit

(babeurre) acide et aromatique difficile à stabiliser et à valoriser. C'est ce qui a amené à repenser la technologie beurrière et contribuer à l'avènement du procédé NIZO.

L'ensemencement de la crème à 3-5 % de bactéries lactiques s'effectue à l'aide d'une pompe doseuse. Il peut être réalisé soit dès le début de la maturation physique permettant d'atteindre des pH inférieurs à 5,0 soit après la maturation physique. Aujourd'hui, l'acidité finale recherchée est nettement plus faible qu'elle ne l'était par le passé. La tendance est donc à une modération de la maturation biologique. Elle est pratiquée à une température inférieure à 15 °C pendant 10 à 12 heures. Lorsque le pH atteint une valeur proche de 5,5-5,8, la maturation est ralentie par un refroidissement de la crème à 8 °C. Les beurres ainsi fabriqués ont un pH de stockage qui varie de 5,2 à 5,6.

3.5.2.3. *Inversion de phase*

L'inversion de phase consiste à transformer la crème maturée, émulsion de matière grasse dans une phase aqueuse, en beurre, émulsion d'eau dans une phase lipidique. L'inversion de phase s'effectue par barattage, qui est une agitation énergique, à une température correspondant à un rapport optimum de matière grasse cristallisée et de matière grasse liquide (10 à 13 °C en moyenne pour le barattage d'une crème d'hiver et 7 à 10 °C en moyenne pour une crème d'été). Lors du barattage, des bulles d'air sont incorporées dans la crème. Dans un premier temps, l'interface des bulles d'air est stabilisée par les globules gras (non homogénéisés). Lorsque ces derniers deviennent insuffisants pour recouvrir la nouvelle interface créée, la mousse s'effondre provoquant le rapprochement rapide des globules gras (Van Aken, 2001). La coalescence des globules gras est favorisée par la réduction des forces de répulsion consécutives à la diminution de pH et par la présence périphérique de cristaux de matière grasse. La libération de la matière grasse liquide contenue dans les globules gras entraîne une agglomération de globules gras intacts et de fragments de globules gras sous forme de granules. Lorsque la quantité de matière grasse liquide libérée devient suffisamment importante, les granules se transforment en grains de beurre dans lesquelles sont dispersés des gouttelettes de babeurre et des petits globules gras. L'émulsion est alors subitement inversée et le babeurre est expulsé. Après lavage et salage éventuel, le beurre est malaxé afin d'assurer la soudure des grains de beurre et la répartition uniforme de la phase aqueuse et du sel.

Le barattage conventionnel est réalisé de manière discontinue dans un tonneau tournant autour d'un axe horizontal. Il est généralement rempli à 40-50 % de son volume par la crème maturée. Sa rotation assure l'incorporation d'air dans la crème puis l'inversion de phase. Les barattes sont équipées d'une sortie d'évacuation du babeurre et des eaux de lavage. Les barattes fonctionnant en continu, ou butyrateurs, travaillent selon le même principe que les barattes conventionnelles, mais sans interruption, et la violence accrue du barattage active les différentes étapes conduisant à l'inversion de phase. Un butyrateur est formé d'un cylindre refroidi dans lequel tourne un batteur qui réalise l'incorporation de l'air et l'inversion de phase et d'un cylindre de malaxage incliné dans lequel tourne en sens inverse deux vis d'Archimède qui compriment et remontent le beurre. Le lavage et le malaxage du beurre sont généralement réalisés sous vide pour limiter les risques d'oxydation.

3.5.3. Beurre NIZO

La méthode NIZO (Institut néerlandais de recherches laitières) permet de préparer un beurre acide et aromatique à partir d'une crème n'ayant subi aucune maturation biologique. À cette exception près, l'ensemble des autres étapes technologiques reste identique au processus de fabrication du beurre en continu. Une préparation acidifiante et aromatisante (mélange NIZO) est incorporée à raison de 0,8 à 1,25 % environ à un beurre doux en fin de malaxage. Le mélange NIZO est préparé en condition aérobie en mélangeant énergiquement d'une part environ 40 % de concentré d'acide lactique (teneur en acide lactique du concentré proche de 18 %) obtenu par culture de *lactobacillus helveticus* sur lactosérum et d'autre part environ 60 % de levain lactique mésophile (*Lactococcus lactis*, *Lactococcus cremoris* et *Lactococcus diacetylactis*). L'oxygénation intense du milieu est favorable à la production de diacétyle, caractéristique de l'arôme du beurre. La préparation finale est très acide et ne contient plus de bactéries actives. Cette première injection est complétée par une seconde injection de levain de bactéries vivantes constitué de souches acidifiantes de *Lactococcus lactis* et *Lactococcus cremoris* ainsi que d'une souche aromatique différente du levain précédent, *Leuconostoc cremoris*. Cette population bactérienne est capable de consommer l'excès d'acétaldéhyde, à l'origine d'un goût de « yaourt », pendant la conservation du beurre (figure 29).

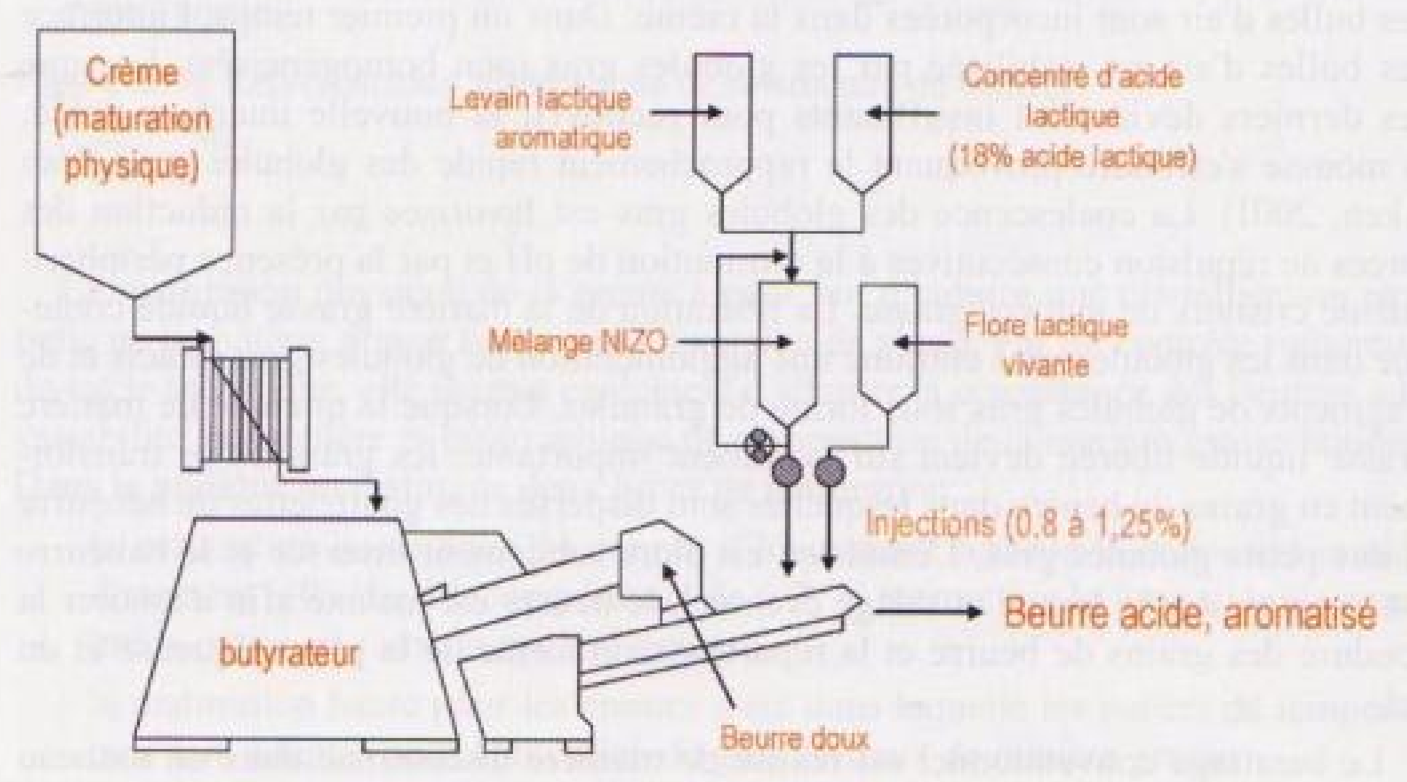


Figure 29 ■ Fabrication du beurre suivant la technologie NIZO.

Les avantages de la méthode NIZO sont multiples : le coproduit généré (babeurre doux) dont la composition est proche de celle d'un lait écrémé est plus facile à valoriser ; le pH du beurre peut être ajusté au niveau de l'injection d'acide lactique concentré ; la maîtrise des conditions de culture des levains (milieu de culture et température contrôlés) permet une très grande régularité dans la production des arômes. Enfin, la température de cristallisation de la matière grasse des crèmes est déterminée uniquement dans le but d'une régulation de la consistance des beurres (Millet, 1998).

2

Du muscle à la viande et aux produits dérivés

Dans cette partie seront traités les technologies et produits des filières viande et halieutique, qui bien de nature et de poids très différents présentent de nombreuses similitudes. En effet, Le tonnage traité par la filière viande est huit fois plus important que celui traité par la filière halieutique. La production de viande concerne six grandes catégories, dont trois d'entre elles (porcs, gros bovins et volailles) en représentent plus de 90 %. Les produits de la filière halieutique sont quant à eux très divers, puisqu'ils sont constitués de près de 230 espèces différentes dont 150 espèces de poissons mais également des mollusques, crustacés, céphalopodes et algues ; ces produits ont des compositions et des caractéristiques très variables.

En outre, il est également important de prendre en compte les modes de production qui ont une forte influence sur la conservation et la qualité des produits. Dans la filière viande, les animaux proviennent exclusivement de l'élevage ; la composition et la qualité de la matière première sont maîtrisées par la sélection génétique, l'alimentation et les conditions de l'abattage. Dans le cas des produits halieutiques, la majorité de la production provient de la pêche (71 %) même si la part aquacole progresse rapidement : la production mondiale des produits halieutiques d'élevage est passé de 3,9 % en 1970 à 30 % environ en 2003. Le stade physiologique, l'alimentation, l'historique et l'abattage des produits de pêche sont très difficiles à maîtriser ; or, ces différents facteurs ont des conséquences sur l'évolution du muscle après la mort de l'animal et sur la qualité du produit à terme.

1. *Biochimie du muscle (animaux terrestres et poissons)*

Le muscle de viande des animaux terrestres et la chair de poisson ont une composition biochimique assez proche, en particulier en ce qui concerne les teneurs en protéines, sucres, minéraux, vitamines ; en revanche, les teneurs en lipides et en eau sont assez différentes.

La répartition de la matière grasse est très variable dans les poissons et dans la viande. Les lipides des poissons gras sont principalement localisés dans le tissu musculaire alors que ceux des poissons maigres sont surtout contenus dans le foie. Les lipides de la viande sont pour une part intramusculaires (persillé ou marbré), mais l'essentiel est extramusculaire : il s'agit de graisse de couverture et de graisse interne à la carcasse. Lorsque l'on parlera de composition biochimique globale, et notamment de teneurs en lipides dans le muscle, on s'intéressera à la composition du muscle squelettique. Seule la matière grasse intramusculaire sera prise en compte, les graisses de couverture (souvent prélevées à l'abattoir) et les graisses internes n'étant généralement pas consommées.

1.1. Organisation et composition du muscle de viande et de poisson

1.1.1. Organisation des tissus

1.1.1.1. Viande

Les viandes et les produits à base de viande sont très variés puisque l'on compte près de 900 termes pour définir ces produits. Même lorsque l'on restreint la viande aux seuls muscles, la diversité est encore très grande ; plus de 100 muscles de structure et de composition différentes peuvent être prélevés sur une demi-carcasse et chaque muscle est lui-même hétérogène.

La carcasse des animaux terrestres est constituée de plusieurs types de tissu : musculaire, conjonctif, adipeux, sanguin, nerveux et osseux. Chacun d'eux contribue aux qualités organoleptiques de la viande : les tissus musculaire et conjonctif à la tendreté, le tissu sanguin à la couleur, les tissus adipeux à la saveur, etc. Le tissu osseux n'est en général pas consommé, mis à part dans les viandes hachées où une petite proportion d'os est tolérée par la réglementation.

Il existe chez les animaux deux grands types de muscles : les muscles striés et les muscles lisses. Ils se différencient non seulement par leur aspect strié ou non, bien visible au microscope optique, mais également par leur couleur : les muscles lisses sont de couleur blanche alors que les muscles striés sont plutôt rouges. Cependant, il existe des muscles striés de couleur blanche comme ceux du pectoral de poulet par exemple. Les muscles lisses se retrouvent principalement au niveau des organes (estomac, intestin, etc.) et ne sont pas consommés en tant que viande. Pour cette raison nous nous intéresserons essentiellement aux muscles striés.

► TISSU MUSCULAIRE

Le tissu musculaire est très différencié et hautement spécialisé, il est composé de différentes fibres, de type métabolique ou contractile, juxtaposées entre elles et structurées par des tissus conjonctifs dont le principal composant chimique est le collagène. La typicité des fibres repose sur l'importance relative des éléments constitutifs : myoglobine, lipides intrafibres, enzymes, etc. Ainsi, la composition chimique d'un muscle dépend de l'importance relative de chaque type de fibres le constituant mais aussi de la part relative de l'armature de tissu conjonctif (endomysium, périmysium, épimysium et tendon ; figure 30).

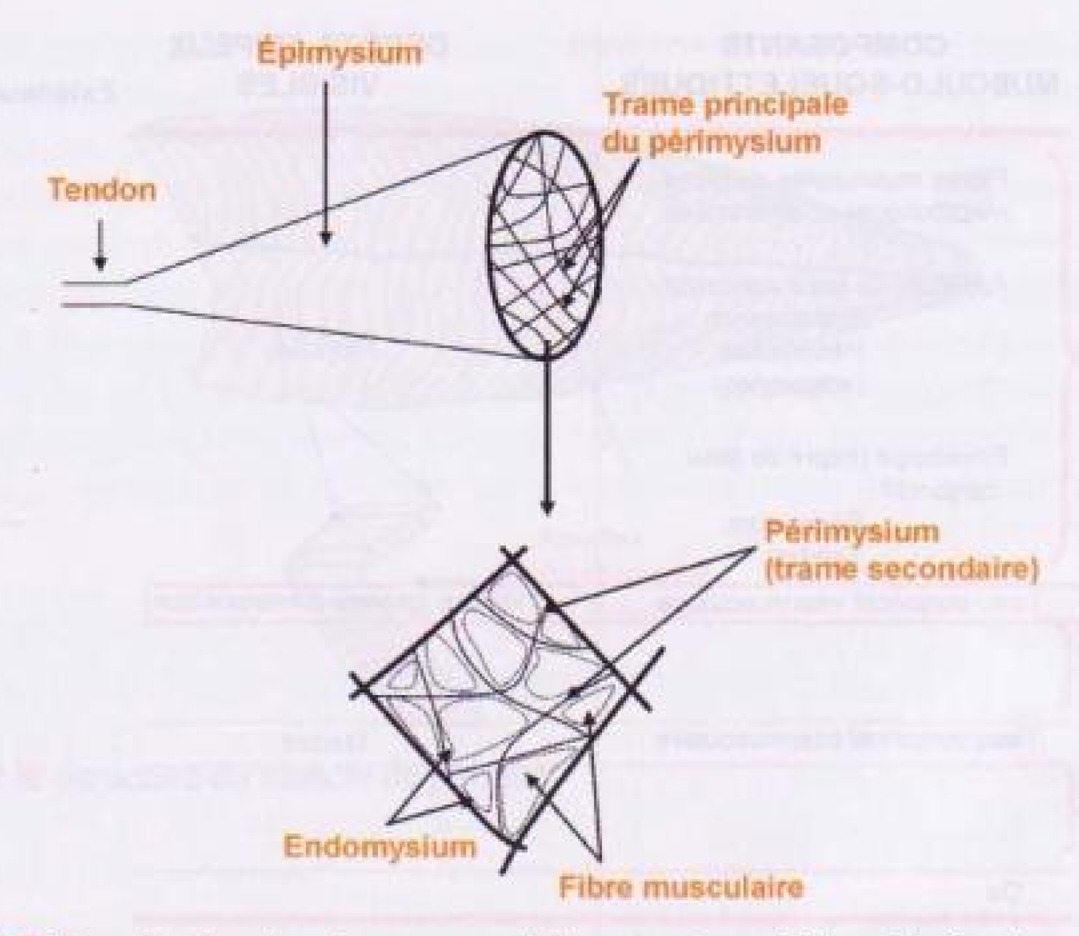


Figure 30 ■ Organisation des tissus musculaire et conjonctif dans la viande.

▶ TISSU CONJONCTIF

Le tissu conjonctif est présent à différents niveaux dans le muscle. Le premier niveau, appelé *endomysium*, est constitué par une fine lame de conjonctif emballant plusieurs fibres musculaires formant des faisceaux primaires ou « grain de viande ». La taille du grain de viande varie selon les espèces et la race : il est fin chez la race limousine et plus gros chez la race charolaise. Une deuxième lame de tissu conjonctif appelée *périmysium* entoure un certain nombre de faisceaux primaires pour constituer des faisceaux secondaires. Enfin, l'*épimysium* ou aponévrose entoure l'ensemble des faisceaux secondaires pour constituer le muscle. Cette lame conjonctive, épaisse et blanche, est visible sur certains muscles et systématiquement éliminée en boucherie.

À l'extrémité des muscles, le tissu conjonctif constitue les tendons. Ils permettent la fixation des muscles sur les os et la transmission de la force née de la contraction musculaire. Les tendons sont éliminés lors du parage des viandes.

▶ TISSU ADIPEUX

Le tissu conjonctif musculaire renferme des adipocytes au niveau du *périmysium* ; ils constituent le persillé, dépôts gras visibles à l'œil. Outre le persillé, trois classes de dépôts adipeux sont présents dans la carcasse : le marbré ou gras intermusculaire (GI), le gras de couverture (GC), et la graisse interne au niveau des cavités thoracique, abdominale et pelvienne (figure 31).

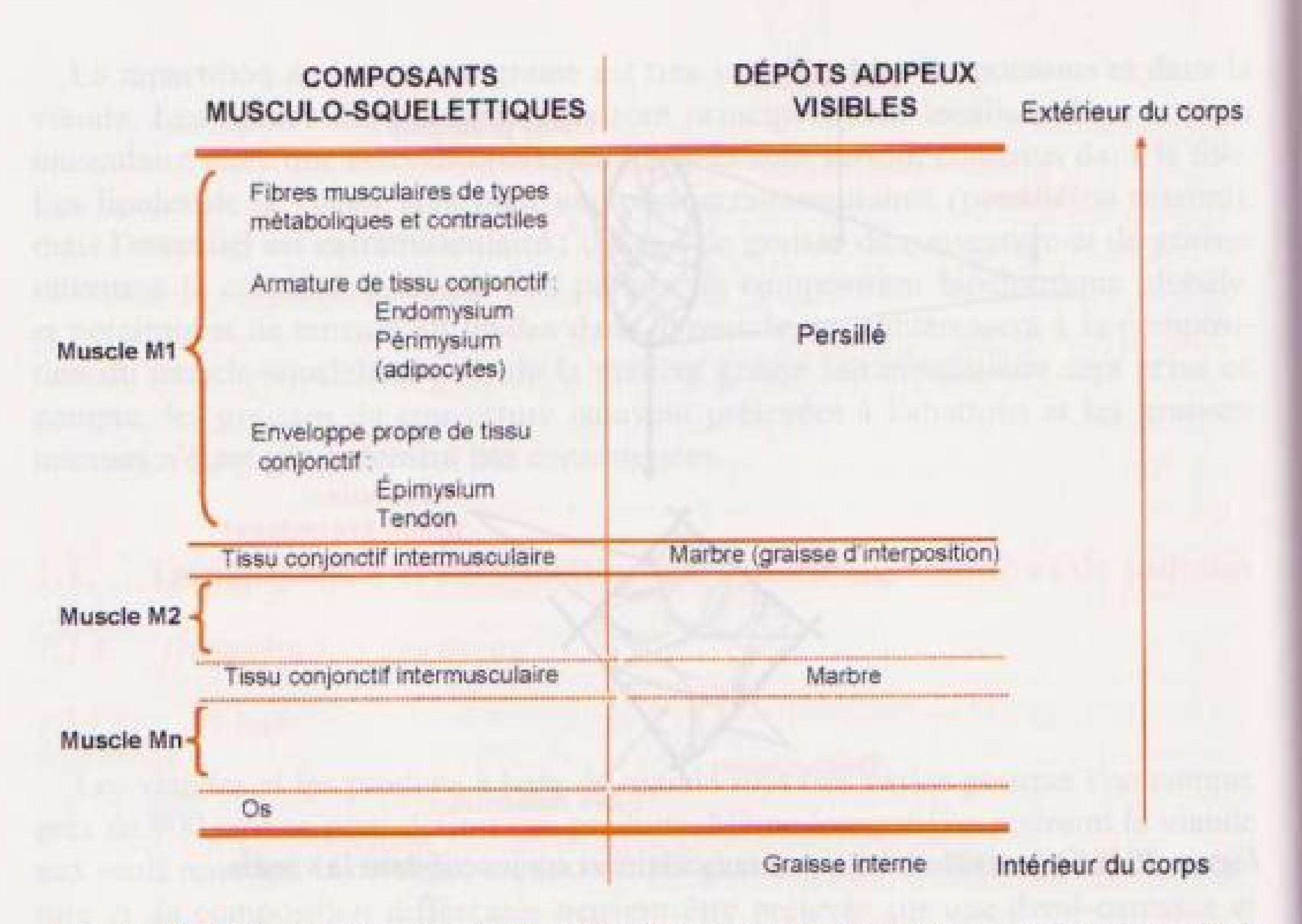


Figure 31 ■ Organisation des tissus musculaire, conjonctif et adipeux dans le muscle de viande.

1.1.1.2. Poisson

Le muscle du poisson est également constitué d'un tissu musculaire et d'un tissu conjonctif, mais leur organisation est différente de celle du muscle de viande. En effet, l'interpénétration de ces deux tissus est moins forte. Par ailleurs, les muscles de poisson ont une structure métamérique. La chair de poisson est formée de muscles longs divisés en feuillets de forme conique, dont le sommet est dirigé vers la tête (tissu musculaire). D'une longueur égale ou inférieure à 3 cm, les feuillets également appelés *myotomes*, sont emboîtés les uns dans les autres mais restent séparés par des cloisons de tissu conjonctif, les *myocomes* (figure 32). Lorsque le tissu conjonctif se sépare des myotomes, ceux-ci s'individualisent, c'est le clivage ou *gaping*.

La matière grasse du poisson est localisée différemment dans un poisson maigre ou gras. Chez le poisson gras, les lipides servent surtout de réserves énergétiques et se trouvent dans les tissus sous-cutanés, dans les viscères et dans le tissu conjonctif. Chez les poissons maigres, une faible proportion des lipides entre dans la constitution des membranes cellulaires et donc dans le tissu musculaire, le reste se trouvant dans les viscères. Les lipides du tissu musculaire sont des phospholipides. Ils ne constituent pas une réserve énergétique mais peuvent être utilisés en tant que tel par les poissons à chair blanche pendant les périodes de diète prolongée.

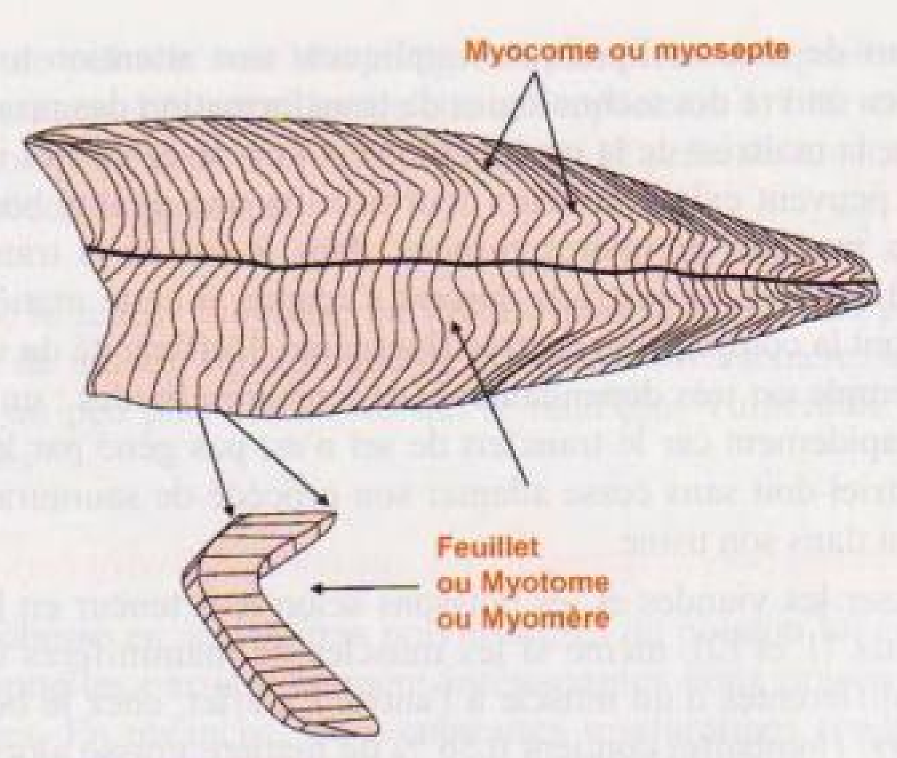


Figure 32 ■ Structure du muscle de poisson.

1.1.2. Comparaison des compositions biochimiques du muscle de la viande et du poisson

1.1.2.1. Composition biochimique globale

Bien qu'ils soient constitués différemment, il est possible de comparer le muscle squelettique de viande et le muscle de poisson puisqu'ils sont tous les deux principalement constitués d'eau, de protéines, de lipides, de glucides et de minéraux (tableau 10).

Tableau 10 ■ Comparaison des compositions biochimiques globales des muscles de poissons et d'animaux terrestres (en g pour 100 g de muscle).

	Muscle de poisson	**Muscle squelettique de mammifère**
Eau	70-80	65-72
Protéines	16-22	20-23
Lipides	1-10	4-15
Glucides	0,3-1,0	0,5-1,0
Minéraux	1,0-1,5	1,0-1,3

Si les teneurs en protéines, en sucres et minéraux varient peu selon les stades physiologiques ou l'état alimentaire des animaux (période de migration, de frai), la teneur en lipides est en revanche très fluctuante : dans le cas d'un poisson gras, d'un maquereau par exemple, la teneur en lipides peut varier de 4 % au printemps à près de 28 % en automne. La composition lipidique des viandes varie également en fonction de l'alimentation et de l'âge de l'animal mais cette variation concerne surtout le tissu adipeux et peu le tissu musculaire squelettique.

Ces variations de teneurs lipidiques impliquent une attention toute particulière lors de la mise en œuvre des technologies de transformation des produits. Si dans le cas des viandes, la maîtrise de la composition est plus aisée car les industriels de la transformation peuvent exiger de leurs fournisseurs une qualité homogène et bien définie de leurs matières premières carnées, dans le cas de la transformation des produits halieutiques, les industriels doivent s'adapter à cette matière première de « cueillette » dont la composition est très fluctuante. L'efficacité du saumurage d'un poisson par exemple est très dépendante de sa teneur en lipides ; un muscle maigre se salera plus rapidement car le transfert de sel n'est pas gêné par les couches lipidiques. L'industriel doit sans cesse adapter son procédé de saumurage à la matière première entrant dans son usine.

On peut classer les viandes et les poissons selon leur teneur en lipides dans les muscles (tableaux 11 et 12), même si les muscles de mammifères ont des teneurs en lipides très différentes d'un muscle à l'autre. En effet, chez le bœuf, un muscle tel que le *L. dorsi* (lombaire) contient 0,56 % de matière grasse alors que le muscle *Rectus femoris* en contient 1,49 %. Chez le porc, *L. dorsi* (lombaire) et *Rectus femoris* en contiennent respectivement 3,36 % et 0,99 %.

Tableau 11 ■ Composition biochimique des muscles *L. dorsi* d'animaux terrestres (d'après Lawrie, 1998).

	Lapin	**Mouton**	**Porc**	**Bœuf**
Eau (%)	77,0	77,0	76,7	76,8
Graisse intermusculaire (%)	2,0	7,9	2,9	3,4

Tableau 12 ■ Teneurs habituelles en graisse (en %) chez quelques espèces communes de poisson (d'après Piclet, 1987).

Teneurs (en %)	**Espèces**			
Habituellement < à 1 %	Cabillaud	0,1-0,9	Lieu noir	0,3-1,0
	Lieu jaune	0,6-0,8	Merlan	0,2-0,6
	Lingue	0,1-0,4	Pétoncle	0,3-0,9
Habituellement comprises entre 1 et 5 %	Bar	0,8-2,5	Carrelet	1,1-3,6
	Crevette	0,3-3,1	Dorade	0,8-3,3
	Flétan	0,7-5,2	Huître	0,3-2,2
	Merlu	0,4-2,7	Raie	0,1-1,6
	Roussette	3,9-5,6	Sole	0,2-2,3
	Turbot	2,1-3,9		
Habituellement > à 5 %	Anchois	0,9-12	Anguille	0,8-31
	Hareng	0,8-25	Maquereau	0,7-23
	Mulet	0,2-14,8	Sardine	1-23
	Saumon	2,0-18	Thon blanc	0,7-18,2

Les muscles de poisson sont dits maigres quand leur composition moyenne en lipides ne dépasse pas 1 %, gras lorsqu'elle est supérieure à 5 %, et intermédiaires lorsqu'elle est comprise entre 1 et 5 %. Le tableau 12 présente les teneurs lipidiques de quelques espèces de poissons.

Globalement, la teneur moyenne en lipides dans le muscle de poisson est plus faible que celle du muscle squelettique de la viande. Inversement, la teneur en eau du poisson est un peu plus élevée, ce qui le rend plus vulnérable aux altérations microbiologiques.

1.1.2.2. Une spécificité du poisson : ses acides gras polyinsaturés

La grande richesse en acides gras polyinsaturés du poisson lui confère des propriétés nutritionnelles particulièrement intéressantes pour prévenir les maladies cardiovasculaires. En revanche, les nombreuses insaturations rendent les produits aquatiques très vulnérables vis-à-vis des phénomènes d'oxydation. Cette richesse en acides gras polyinsaturés est une limite à la conservation des poissons gras, même à l'état congelé, puisqu'une fois initiés, les phénomènes d'oxydation sont très peu ralentis par les températures basses et la réduction de l'activité de l'eau (a_w).

Les acides gras insaturés du poisson et de la viande représentent, respectivement, jusqu'à 70 % et 45 % des lipides totaux (tableau 13).

Tableau 13 ■ Composition en acides gras saturés et insaturés de quelques produits halieutiques (en % de lipides totaux) (d'après Piclet 1987).

Produits	Saturés	Insaturés	Mono-insaturés	Polyinsaturés
Poissons				
Cabillaud	28,1	71,4	11,2	60,2
Merlan	20,4	77,5	41,3	36,2
Maquereau	30,3	69,7	43,9	25,8
Truite arc-en-ciel	20,4	71,4	32,3	40,1
Limande sole	20,1	75	27,4	47,6
Germon	17,8	72,2	27,8	44,4
Thon rouge	34,1	63,8	36,2	27,6
Crustacés				
Crabe	16,8	80,2	27,4	52,8
Crevette	21,8	75,4	29	46,4
Coquillages				
Huître creuse	30,4	67,4	15,7	51,7
Moule californienne	29,9	65,7	26,4	39,3
Palourde commune	20,6 à 35,6	41,9 à 55,9	18,9 à 32,7	18,3 à 35,4
Pecten (Saint-Jacques)	31,7	65,8	9,1	55,7

Tableau 13 (suite) ■ Composition en acides gras saturés et insaturés de quelques produits halieutiques (en % de lipides totaux) (d'après Piclet 1987).

Produits	Saturés	Insaturés	Mono-insaturés	Polyinsaturés
Foie				
Aiguillat	20,4	71,2	55	16,2
Morue	15 à 19	76 à 80	47 à 60	21 à 29
Huiles				
Anchois	30,5	69,7	32,6	37,1
Hareng	26,1	73,5	55	16,2
Maquereau	27,5	72,5	48,9	23,6

1.1.2.3. Autre spécificité du poisson : sa richesse en azote non protéique

Les principaux constituants de la fraction azotée non protéique du poisson sont l'ammoniac, l'oxyde de triméthylamine (OTMA), la créatine, les acides aminés libres, les nucléotides, les bases puriques et l'urée dans le cas des poissons cartilagineux. Ils conduisent à la formation de composés de dégradation qui sont très souvent préjudiciables à sa qualité.

L'OTMA est un composé typique très important notamment chez les sélaciens alors qu'il est absent chez les crustacés, les espèces d'eau douce et chez les mammifères. Ce composé a la particularité de se dégrader en triméthylamine (TMA) par voie bactérienne, ce dernier servant ainsi d'indice de qualité du poisson. Au plan quantitatif, on peut aussi souligner l'importance de la créatine, qui sous la forme phosphorylée, fournit l'énergie pour la contraction musculaire.

Les acides aminés libres sont présents en quantité non négligeable chez le poisson (1,3 à 3,8 % contre 0,1 à 0,6 % dans la viande). Ils ont une importance relative variable suivant les espèces : la taurine, l'alanine, la glycine et les acides aminés à noyau imidazole semblent dominer chez la plupart des poissons. L'histidine, acide aminé particulièrement abondant chez les clupéidés et les scombridés, a fait l'objet de nombreuses études car sa décarboxylation par voie microbienne conduit à l'histamine, amine à l'origine d'allergie alimentaire. De plus, sa thermorésistance la préserve d'une destruction au cours des procédés de transformation, ce qui explique que l'histamine fasse l'objet d'une réglementation très stricte.

1.2. Structure du muscle

1.2.1. Cellule musculaire

Le tissu musculaire est composé de cellules spécialisées appelées cellules musculaires ou fibres musculaires (figure 33). Ce sont de grandes cellules de 1 à 100 µm de diamètre et de 1 mm à 40 cm de longueur (3 cm maximum chez le poisson). La membrane cellulaire ou *sarcolemme* est en contact étroit avec une très fine

lame de tissu conjonctif appelé *endomysium* qui relie plusieurs fibres musculaires entre elles.

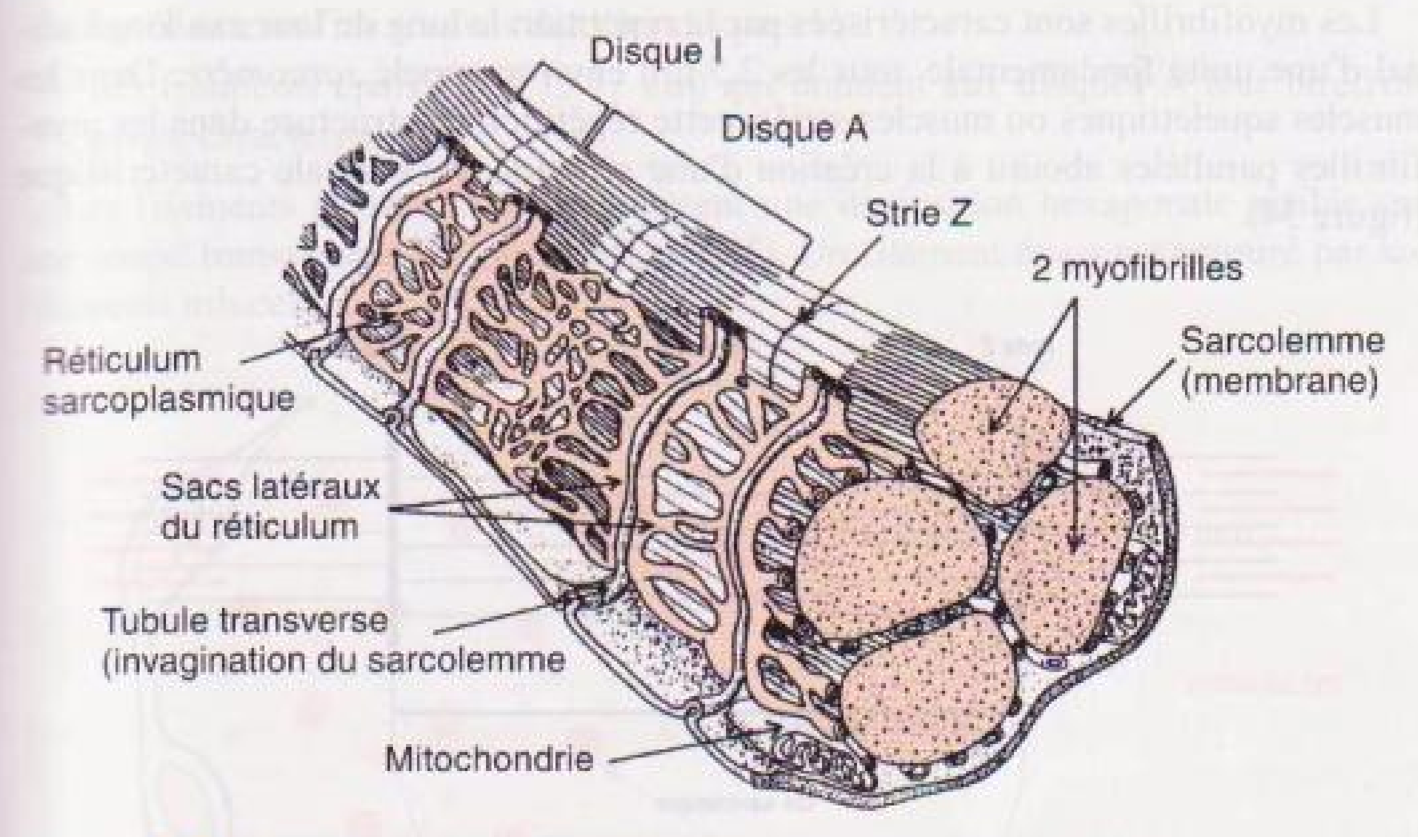


Figure 33 ■ Structure de la cellule musculaire.

Dans le cytoplasme ou sarcoplasme, on trouve des organites classiques à toutes les cellules :

- plusieurs centaines de noyaux situés sur la face interne du sarcoplasme : la cellule musculaire est plurinuclée ;
- un appareil de Golgi, complexe de citernes limitées par une double membrane. Il intervient aux cours de différents métabolismes cellulaires et a également un rôle dans les processus d'excrétion ;
- des mitochondries, qui jouent un rôle très important dans les processus énergétiques (chaîne de transfert des électrons et phosphorylation oxydative) ;
- de petites gouttelettes lipidiques.

Mais également des organites typiques aux cellules musculaires :

- des granules de glycogène, réserve d'énergie pour la contraction musculaire ;
- des lysosomes, petites vacuoles contenant de nombreuses enzymes parmi lesquelles on retrouve des protéases acides comme les cathepsines ;
- un système contractile fait de filaments protéiques disposés parallèlement au grand axe de la fibre et qui lui donne son aspect strié. L'ensemble est maintenu en place par une sorte de squelette interne, le cytosquelette.

1.2.1.1. Myofibrilles

Les myofibrilles sont des éléments contractiles conférant aux cellules musculaires leur propriété de contraction. Elles sont disposées parallèlement au grand axe de la fibre et responsables de la striation longitudinale du muscle. Elles sont de la

même longueur que la fibre musculaire et ont un diamètre moyen de 0,1 µm. Leur structure est hétérogène.

Les myofibrilles sont caractérisées par la répétition le long de leur axe longitudinal d'une unité fondamentale, tous les 2,5 µm environ appelé *sarcomère*. Dans les muscles squelettiques ou muscles striés, cette répétition de structure dans les myofibrilles parallèles aboutit à la création d'une striation transversale caractéristique (figure 34).

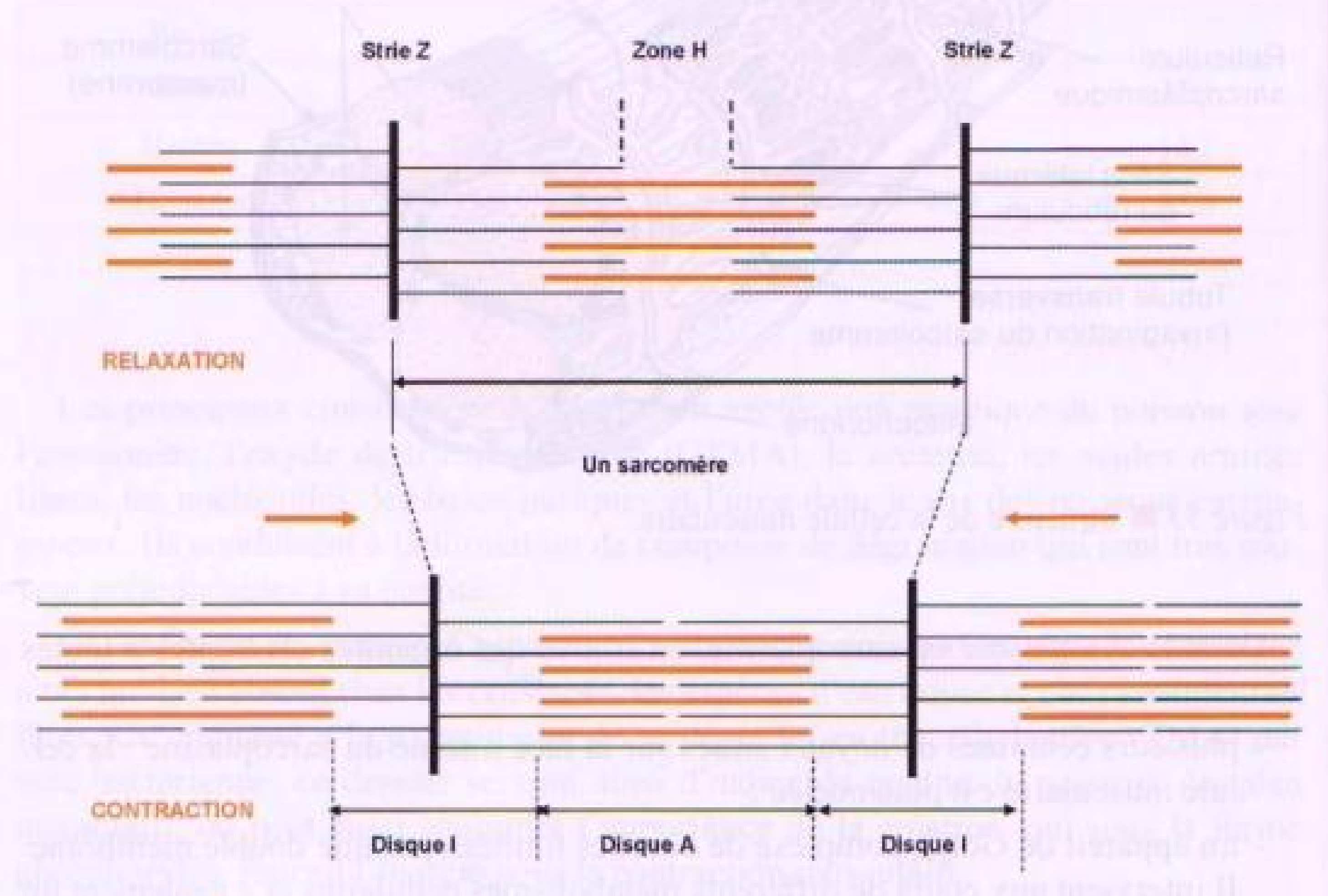


Figure 34 ■ Structure des myofibrilles.

Cette striation est le résultat de l'alternance de zones denses, sombres, ou disque A (anisotrope) d'une longueur de 1,0 µm, et de zones moins denses, claires ou disque I (isotrope) d'une longueur de 1,6 µm. Les disques I sont séparés en deux par une « cloison transversale » : la ligne Z ou strie Z. Les stries Z se prolongent d'une myofibrille à l'autre pour finalement se raccorder au sarcolemme. Elles constituent un véritable squelette interne de la cellule et ont un rôle de soutien important. Elles permettent également de rendre synergique le travail des différentes unités contractiles. Au centre du disque A il existe une zone moins dense, plus claire : la zone H. Elle est séparée en deux par une ligne transversale plus sombre : la ligne H.

Le sarcomère, localisé entre deux stries Z, est l'unité contractile de base. Dans le muscle au repos, sa longueur est de 3 à 5 µm.

1.2.1.2. Myofilaments

Chaque myofibrille est formée de nombreux myofilaments, parallèles, de deux types : myofilaments fins et myofilaments épais. Dans les disques I (zones claires),

seuls les filaments fins sont présents (∅ = 6 nm). Les zones denses des disques A contiennent :

– les filaments fins trouvés dans les disques I ;
– des filaments épais (∅ = 15-17 nm) qui donnent aux disques A leur biréfringence caractéristique.

Les filaments minces et épais adoptent une disposition hexagonale visible sur une coupe transversale de muscle (figure 35). Un filament épais est entouré par six filaments minces.

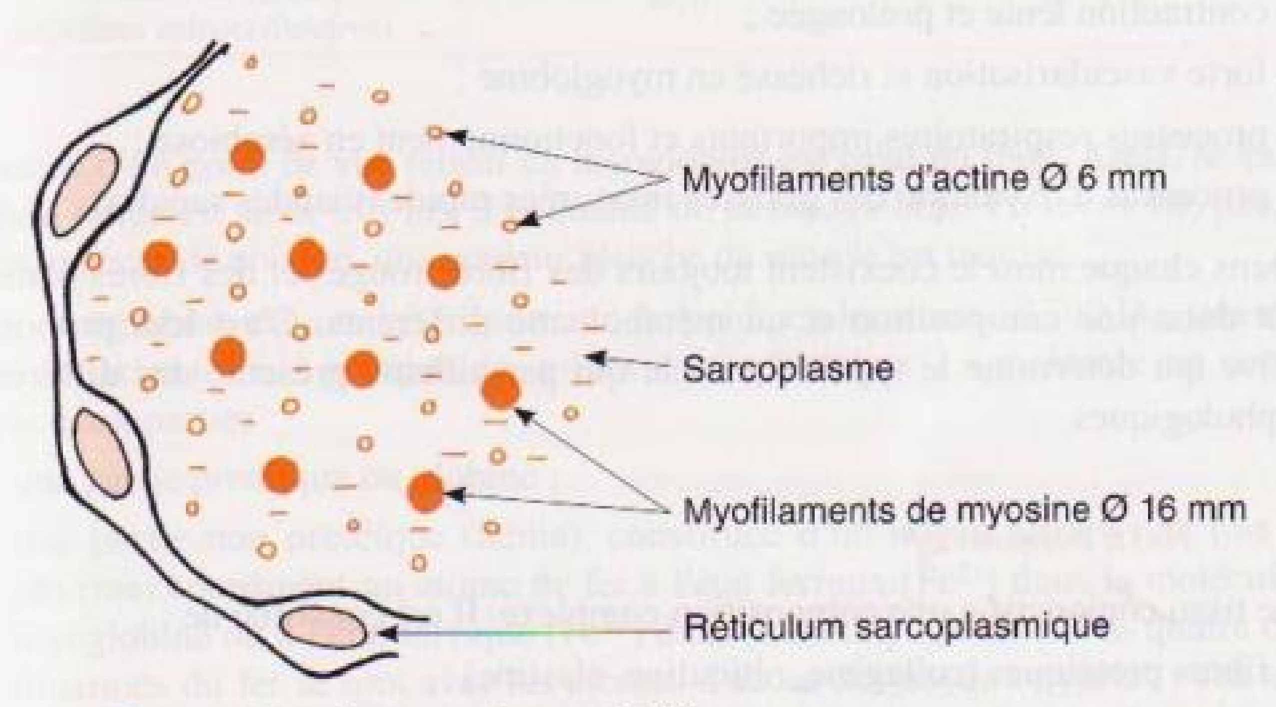


Figure 35 ■ Coupe d'un fragment de myofibrille.

Les filaments épais s'étendent d'une extrémité à l'autre du disque A. Au contraire, les filaments minces commencent au niveau de la strie Z, se prolongent dans le disque A, mais se terminent sur le bord de la zone centrale H des disques A.

À l'intérieur des zones denses des disques A, il existe des ponts entre les filaments fins et les filaments épais adjacents. Ils se forment à partir des filaments épais. Ce sont les seules connexions existantes entre ces différents filaments.

Ces différents éléments typiques de la cellule musculaire sont maintenus en place dans le sarcoplasme par des éléments longitudinaux et verticaux appartenant au réticulum sarcoplasmique et au cytosquelette. Ce dernier est constitué essentiellement de deux protéines insolubles : la connectine et la desmine.

1.2.1.3. Modification du sarcomère pendant la contraction musculaire

Au cours de la contraction et de l'extension musculaire, la taille du sarcomère varie considérablement. Au moment de la contraction, sa longueur peut diminuer de 50 % et augmenter jusqu'à 120 % pendant l'extension.

Au moment de la contraction, les filaments ne subissent pas de modification de leur longueur mais le raccourcissement du muscle est dû au glissement des fila-

ments minces et épais les uns sur les autres. Il se produit une interpénétration et un chevauchement des filaments épais par les filaments fins (figure 34).

1.2.2. Muscles blancs et muscles rouges

Ils sont caractérisés par une plus ou moins grande proportion de fibres rouges et de fibres blanches qui, mis à part leur couleur, se distinguent par leur vitesse de contraction et leur type métabolique. À l'inverse des fibres blanches, les fibres rouges présentent les caractéristiques suivantes :

- contraction lente et prolongée ;
- forte vascularisation et richesse en myoglobine ;
- processus respiratoires importants et fonctionnement en aérobiose ;
- processus d'oxydation des graisses insaturées rapide (viandes sapides).

Dans chaque muscle coexistent toujours des fibres rouges et des fibres blanches ayant donc une composition et un métabolisme différents. C'est leur proportion relative qui détermine le type de muscle qui par ailleurs présente des différences morphologiques.

1.2.3. Tissu conjonctif

Le tissu conjonctif a une composition complexe. Il est constitué de :

- fibres protéiques (collagène, réticuline, élastine) ;
- substance fondamentale dans laquelle baignent ces fibres. Elle joue un rôle très important dans les échanges entre le sang et la cellule musculaire ;
- cellules caractéristiques dont les fibroblastes qui élaborent les fibres conjonctives, les histiocytes (ou macrophages) et les cellules graisseuses ;
- vaisseaux sanguins ;
- nerfs, d'autant plus nombreux que les mouvements sont plus fins.

1.3. Protéines

On distingue trois grandes classes de protéines en fonction de leur position dans le muscle : les protéines du tissu conjonctif, les protéines myofibrillaires et les protéines sarcoplasmiques. La composition protéique moyenne du muscle squelettique est donnée dans le tableau 14.

1.3.1. Protéines du tissu musculaire

1.3.1.1. Fraction soluble : la myoglobine

C'est un élément essentiel de la couleur de la viande qui détermine l'acte d'achat par le consommateur. La couleur de la viande est liée à la quantité de myoglobine et à sa qualité (état chimique du pigment). L'état d'engraissement de l'animal et le pH de la viande interviennent également. Le muscle de poisson s'apparentant le plus à celui de

Tableau 14 ■ Composition en protéines des muscles de viande et de poisson (en g pour 100 g de protéines totales) (d'après Linden et Lorient, 1994).

	Muscle de poisson	**Muscle squelettique de mammifère**
Protéines sarcoplasmiques *(fraction soluble)*	20-35	30-35
Protéines myofibrillaires *(fraction peu soluble)*	60-75	50
Protéines du stroma *(protéines extracellulaires)*	3-10	15-20

la viande d'un point de vue teneur en myoglobine est celui du thon. Ainsi, la qualité du thon rouge est aussi très liée à la qualité de sa myoglobine. En revanche, pour les autres espèces de poisson, une couleur blanche du muscle est requise.

La myoglobine est une hétéroprotéine de poids moléculaire 18 700 Da, très compacte appartenant aux groupes des pigments respiratoires. La molécule est composée de deux parties :

– une partie protéique ou globine ;

– une partie non protéique (hème), constituée d'un noyau tétrapyrole (ou porphyrine) coordinant un atome de fer à l'état ferreux (Fe^{2+}) dans la molécule de myoglobine ou à l'état ferrique (Fe^{3+}) dans la metmyoglobine. Les quatre coordinations du fer se font avec les atomes d'azote des noyaux pyroles ; une autre fait intervenir un résidu d'histidine et la dernière une molécule d'eau. Dans la molécule d'oxymyoglobine, l'oxygène remplace l'eau au niveau de la dernière coordination.

Les deux réactions importantes de la myoglobine intervenant sur la couleur de la viande sont indiquées sur la figure 36.

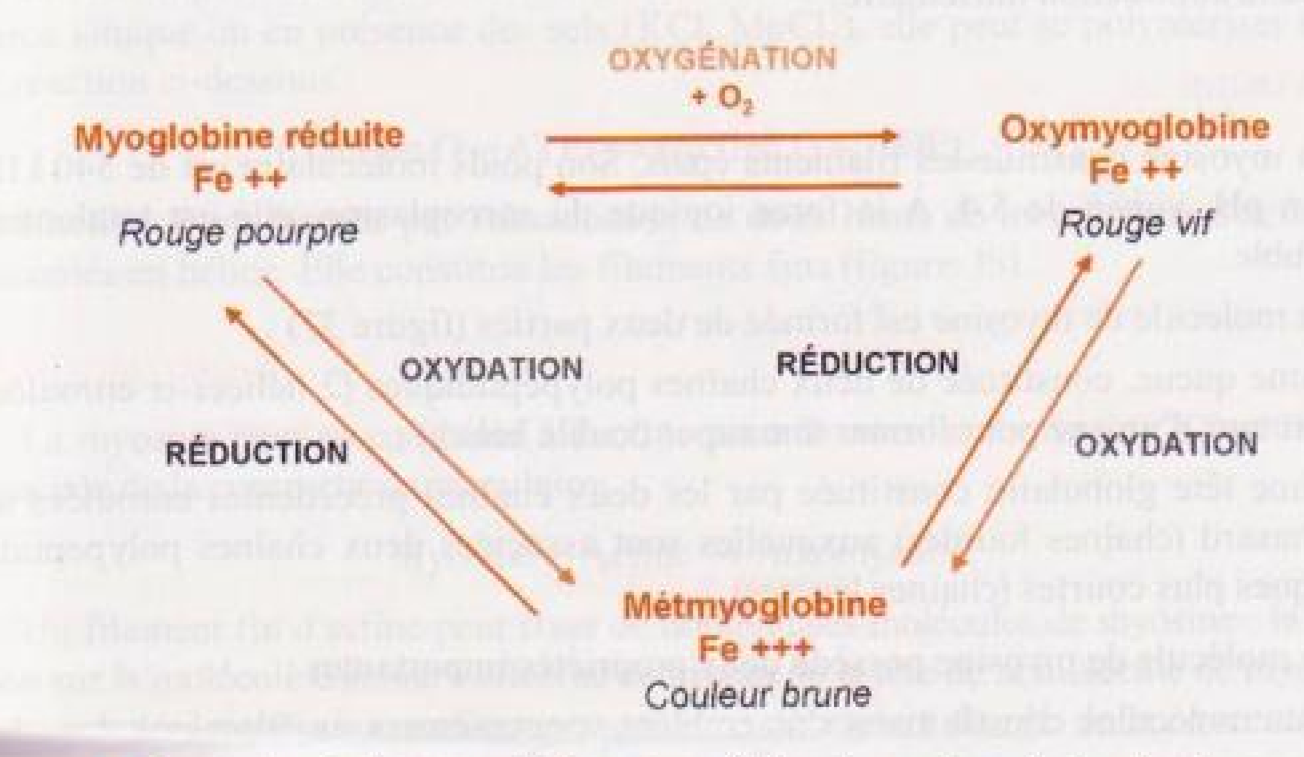


Figure 36 ■ Évolution de la myoglobine et variation de couleur de la viande.

Les trois formes de pigments (myoglobine, oxymyoglobine et metmyoglobine) coexistent en permanence mais c'est leur proportion relative qui confère sa couleur à la viande. Si, à la surface de la viande il y a plus de 40 % de la myoglobine sous la forme de metmyoglobine, la viande est invendable, la couleur marron étant pour le consommateur un signe de mauvaise qualité de la viande, voir de viande avariée.

De nombreux facteurs interviennent sur la structure chimique de l'hème et la couleur de la viande. Certains sont liés aux caractéristiques de l'animal :

- l'âge, la couleur ayant tendance à augmenter avec l'âge ;
- la maturité physiologique qui peut être différente selon les races ;
- l'alimentation, l'état d'engraissement ou une carence en fer qui a tendance à éclaircir la viande ;
- le type de muscle, chaque muscle ayant une couleur plus ou moins stable.

Ces différences s'expliquent essentiellement par la teneur en pigments du muscle. Le pH peut également modifier la couleur de la viande quand il atteint des valeurs anormales, notamment à la suite d'un stress avant abattage. Par ailleurs, le mode de conservation des viandes et leur conditionnement influencent également la couleur de la viande. Ainsi, le conditionnement sous vide favorise la myoglobine de couleur rouge sombre. Le conditionnement sous atmosphère modifiée est favorable à la formation d'oxymyoglobine rouge vif. Quant à la metmyoglobine marron, sa quantité augmente essentiellement avec le temps de conservation (cf. chapitre 13, § 2.2.3.).

1.3.1.2. Fraction peu soluble : protéines myofibrillaires

▶ RAPPEL DE LA STRUCTURE DES MYOFIBRILLES

Les myofibrilles sont composées de myofilaments de nature protéique maintenus en place par les tries Z délimitant les sarcomères. Un squelette interne ou cytosquelette contribue également à la stabilité de la structure. Toutes ces structures sont composées de molécules peu solubles auxquelles s'ajoutent les protéines régulatrices de la contraction musculaire.

▶ MYOSINE

La myosine constitue les filaments épais. Son poids moléculaire est de 540 kDa et son pH_i voisin de 5,4. À la force ionique du sarcoplasme, elle est totalement insoluble.

La molécule de myosine est formée de deux parties (figure 37) :

- une queue, constituée de deux chaînes polypeptidiques (2 hélices-α enroulées autour d'un axe pour former une super double hélice) ;
- une tête globulaire constituée par les deux chaînes précédentes enroulées au hasard (chaînes lourdes) auxquelles sont associées deux chaînes polypeptidiques plus courtes (chaînes légères).

La molécule de myosine possède deux propriétés importantes :

- les molécules constitutives s'assemblent spontanément en filaments dans les conditions physiologiques ;

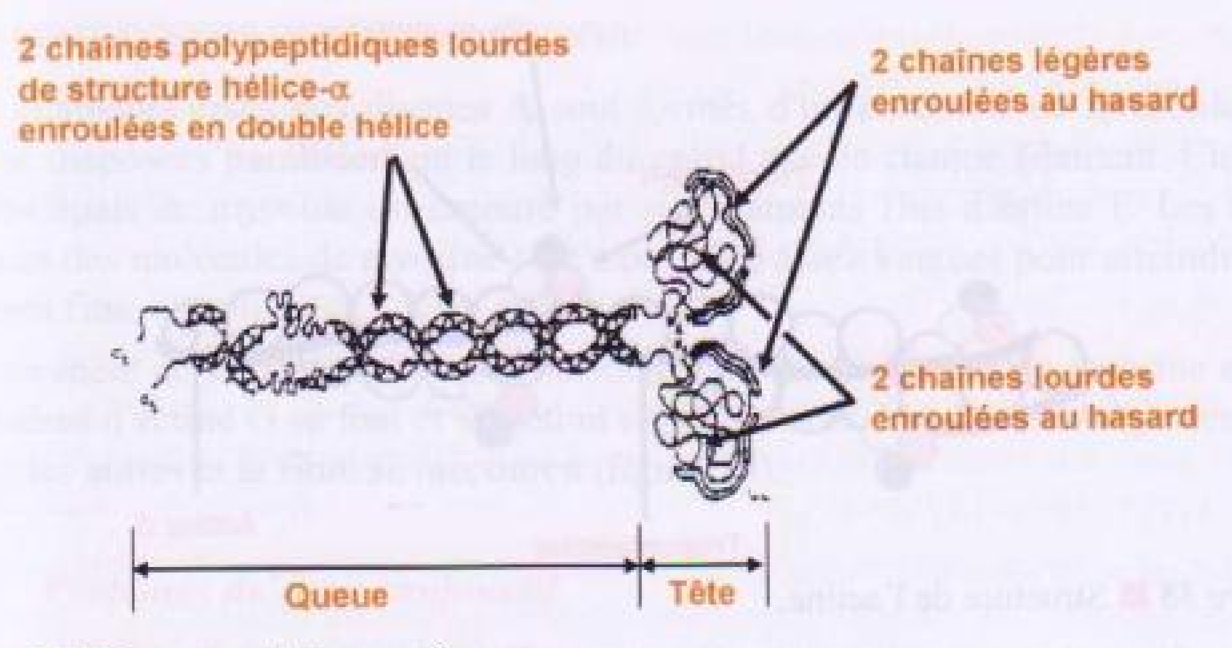


Figure 37 ■ Structure de la myosine.

– la myosine se comporte comme une ATPase faible : elle hydrolyse le groupement phosphate terminal de l'ATP ainsi que le GTP, ITP, CTP ; cette activité est stimulée par les ions Ca^{2+}, inhibée par les ions Mg^{2+}, influencée par la concentration en KCl et possède deux pH optima d'activité (6,0 et 9,5). La réaction d'hydrolyse de l'ATP peut être résumée comme ci-dessous :

$$ATP + H_2O \rightarrow ADP + P_i + H^+ \qquad [11]$$

▶ ACTINE

L'actine existe sous deux formes : l'actine G (actine monomère globulaire) et l'actine F (actine polymérisée fibreuse). À faible force ionique, l'actine se trouve sous forme de monomère (actine G). La chaîne polypeptidique possède un poids moléculaire de 422 kDa et elle est riche en N-méthyllysine, en proline et en cystéine (7 cystéines par molécule). L'actine G est un puissant chélatant des ions Ca^{2+} et elle est capable de fixer l'ATP et l'ADP. Dans les conditions physiologiques de force ionique ou en présence des sels (KCl, $MgCl_2$), elle peut se polymériser selon la réaction ci-dessous :

$$n\,(\text{actine G} - ATP) \rightarrow (\text{Actine G} - ADP)_n + n\,P_i \qquad [12]$$

L'actine F est formée par l'association de deux brins de monomères d'actine G enroulés en hélice. Elle constitue les filaments fins (figure 38).

▶ ACTOMYOSINE

La myosine peut se combiner à l'actine pour former l'actomyosine. C'est l'étape cruciale de la contraction musculaire.

$$\text{Myosine} + \text{Actine} \rightarrow \text{Actomyosine} \qquad [13]$$

Un filament fin d'actine peut fixer de nombreuses molécules de myosine ; la fixation sur la molécule d'actine s'effectue au niveau de la tête de la molécule de myosine. Les caractéristiques du complexe actomyosine dépendent du pH, de la concentration en protéines, en KCl et en $MgCl_2$. L'activité ATPasique de l'actomyosine est 20 fois

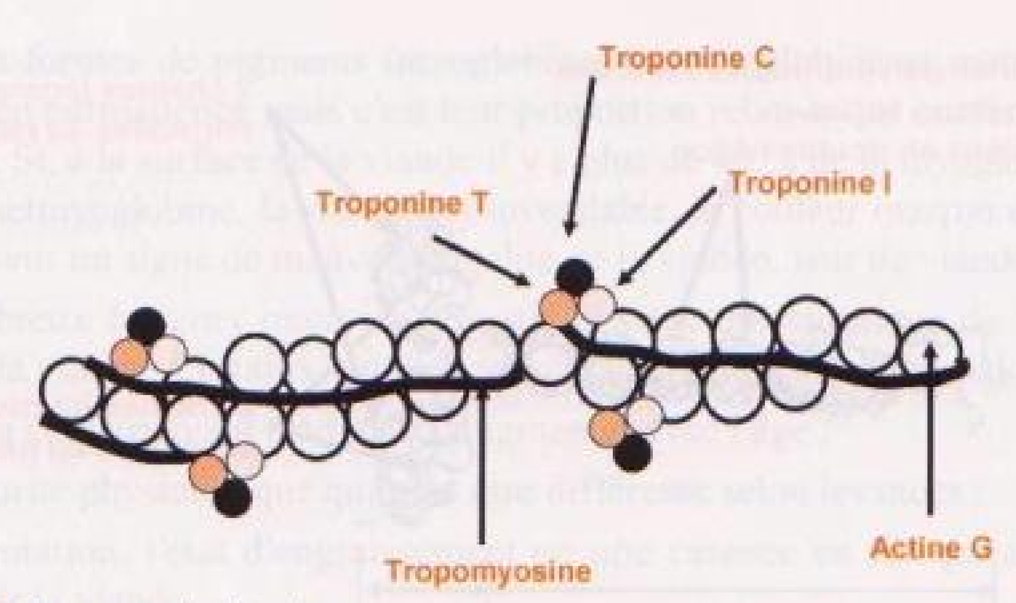


Figure 38 ■ Structure de l'actine.

plus forte que celle de la myosine seule. Elle est activée par les ions Ca^{2+} et les ions Mg^{2+}. Le complexe actomyosine peut être dissocié par l'ATP et les ions K^+ et Mg^{2+}. Dans la cellule musculaire au repos, les deux protéines sont à l'état dissocié.

▶ PROTÉINES RÉGULATRICES : TROPOMYOSINE, TROPINE ET ACTINE

La tropomyosine a un poids moléculaire de 70 kDa. Elle est constituée de deux chaînes polypeptidiques en hélice-α organisées en super double hélice. Elle est riche en acides aminés soufrés dont de nombreuses cystéines non appariées. Elle est localisée dans les filaments fins des disques I, dans l'interstice des deux brins de la double hélice d'actine F (*figure 38*). Dans les cellules musculaires au repos, elle occupe le site d'interaction entre l'actine et la myosine empêchant ainsi toute réaction entre ces deux protéines. Par l'intermédiaire de la troponine I, le calcium contrôle son positionnement et régule ainsi la contraction musculaire.

Le complexe troponine se retrouve au niveau des filaments fins, le long de la chaîne de tropomyosine et est constitué de trois sous-unités :

- la troponine C qui fixe les ions Ca^{2+} (complexe réversible) ;
- la troponine I qui inhibe l'interaction actine-myosine. Cette action est annulée dès que la troponine C a fixé le calcium ;
- la troponine T qui assure la liaison du complexe troponine avec la tropomyosine.

Les actinines α et β se rencontrent dans les stries Z. Leur rôle principal est d'accélérer la polymérisation de l'actine globulaire en actine fibreuse.

▶ CYTOSQUELETTE

Le cytosquelette est constitué de nombreuses protéines comme la filamine, la desmine, la vimentine, la synémine que l'on trouve dans les stries Z. D'autres protéines comme la titine, la nébuline, la connectine constituent un réseau flexible autour des filaments (*gap filament*) en reliant les filaments fins de sarcomères voisins et en traversant les stries Z.

▸ ULTRASTRUCTURE DES MYOFILAMENTS

Les filaments épais des disques A sont formés d'un ensemble de molécules de myosine disposées parallèlement le long du grand axe de chaque filament. Chaque filament épais de myosine est entouré par six filaments fins d'actine F. Les têtes saillantes des molécules de myosine sont alors juste assez longues pour atteindre les filaments fins.

Au moment de la contraction, des liaisons entre les molécules de myosine et les monomères d'actine G se font et se défont régulièrement. Les filaments glissent les uns sur les autres et la fibre se raccourcit (figure 34).

1.3.2. *Protéines du tissu conjonctif*

Les protéines du tissu conjonctif ont un rôle déterminant sur la tendreté de la viande. Ainsi le poisson qui possède de faibles teneurs en tissu conjonctif ne connaît jamais de phénomène de dureté du muscle. Le tissu conjonctif est constitué essentiellement de trois protéines : le collagène, la réticuline et l'élastine. Ce sont des protéines fibreuses qui se distinguent par leur résistance à la chaleur.

1.3.2.1. *Collagène*

C'est la protéine la plus abondante chez les mammifères (15 à 35 % des protéines) alors que sa teneur est beaucoup plus faible chez le poisson (3 % chez les téléostéens et 10 % chez les sélaciens). Sa composition en acides aminés est caractéristique et unique parmi les protéines. Les compositions du collagène de mammifère et de poisson diffèrent, notamment les teneurs en proline et hydroxyproline qui sont plus faibles dans le collagène de poisson, ce qui est à l'origine de propriétés fonctionnelles différentes pour la gélatine. Par exemple, le collagène de poisson se dénature et se solubilise dès 35-40 °C contre 60-65 °C pour le collagène de mammifère. Globalement le collagène est constitué de :

- 33 % de glycine avec une répartition très régulière de cet acide aminé tout le long de la chaîne polypeptidique, soit 1 glycine tous les 3 acides aminés (-Gly-X-X-Gly-X-X-Gly-X-X-Gly-) ;
- 11 % d'alanine ;
- 12 % de proline (10,5 % dans le collagène de poisson) ;
- 9 % d'hydroxyproline (7 % dans le collagène de poisson) et un peu d'hydroxylysine. Ces résidus peuvent être reliés à un diholoside de glucose et galactose (liaison o-glycosidique) ;
- pas d'acides aminés soufrés ni de tryptophane.

La présence d'hydroxyproline est spécifique du collagène dans les protéines animales. Elle permet un dosage quantitatif de la protéine en mélange ainsi que la détection de fraudes éventuelles.

Suivant la composition en acides aminés, jusqu'à 16 types différents de collagène peuvent être distingués mais les types I à V sont les plus répandus. Par exemple le collagène de type I se retrouve dans la peau, les tendons, les os, la cornée alors que

le collagène de type II est présent dans les cartilages, les disques intervertébraux, le corps vitré, etc.).

Le collagène est une protéine très difficilement hydrolysable par les enzymes digestives et possède donc une très faible valeur nutritionnelle. C'est une protéine difficile à valoriser, excepté pour la fabrication de gélatine.

▶ STRUCTURE DU COLLAGÈNE

Le collagène est une protéine de poids moléculaire proche de 285 kDa. La molécule a un diamètre de 1,4 nm et une longueur de 300 nm ce qui en fait le plus long polypeptide connu (figure 39).

La molécule de tropocollagène est constituée de 3 chaînes polypeptidiques hélicoïdales (hélices α), enroulées parallèlement à un axe et formant une super triple hélice. Sa structure tridimentionnelle est stabilisée par des liaisons intercaténaires (2 000 liaisons hydrogènes par molécule de tropocollagène) et par l'encombrement stérique des noyaux pyroles des imino-acides.

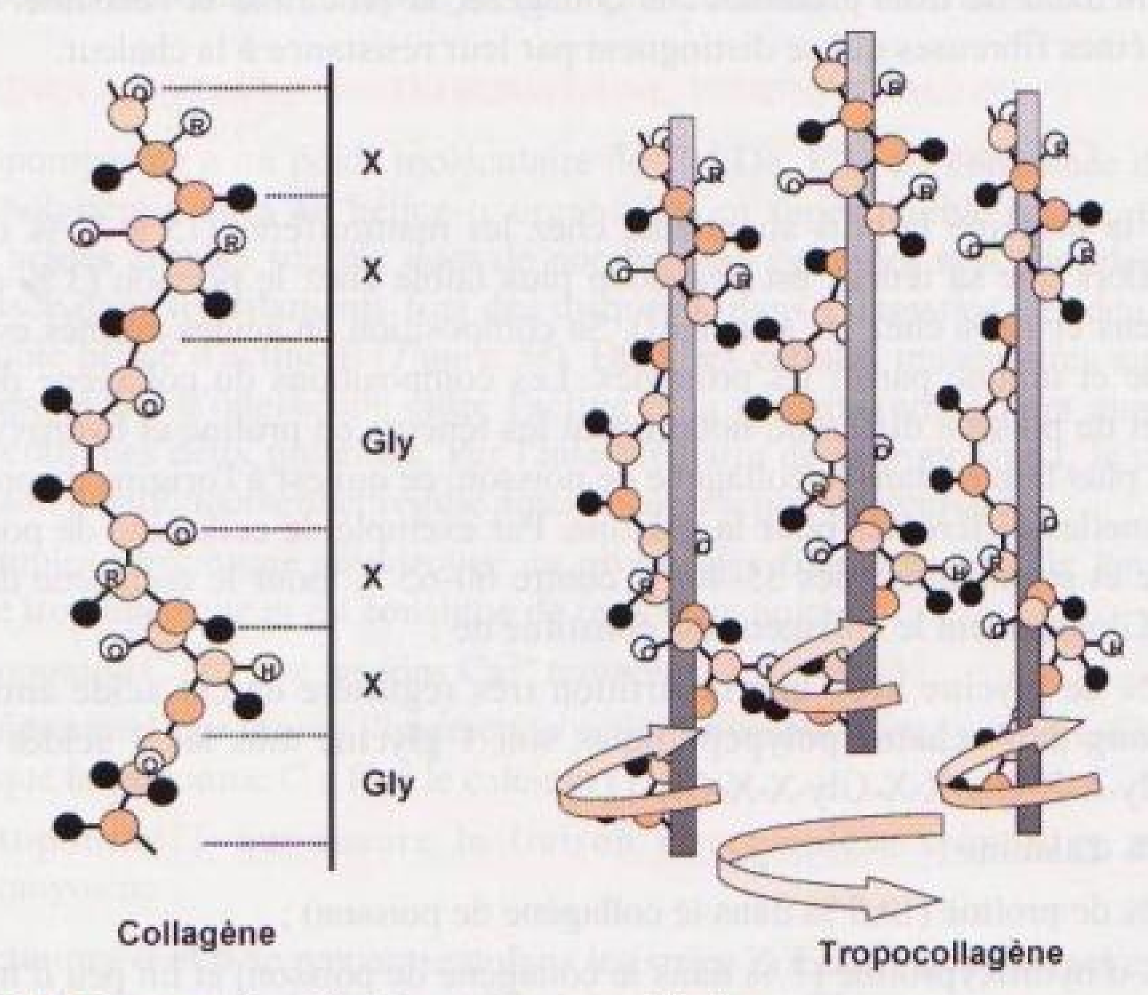


Figure 39 ■ Structure du collagène et du tropocollagène.

Après leur synthèse dans les fibroblastes, les molécules de collagène s'assemblent entre elles pour former des fibrilles. Dans ces fibrilles, chaque monomère spiralé de tropocollagène est décalé du 1/4 de sa longueur par rapport à l'autre ; d'où la périodicité axiale nettement visible au microscope électronique. Les liaisons entre les molécules, peu nombreuses chez le jeune, augmentent avec l'âge. La structure du collagène devient alors de plus en plus solide et rigide, en relation avec la tendreté de la viande. La structure du collagène est une structure quasi cristalline.

▶ PROPRIÉTÉS DU COLLAGÈNE

• *Collagène natif et tendreté de la viande :* le collagène est une protéine naturellement très peu hydratée contenant quasiment 50 % de matière sèche. Contrairement à l'élastine, le collagène est très peu élastique. La répartition de ces deux protéines dans les parois des vaisseaux sanguins (les fibres de collagène sont réparties selon l'axe longitudinal des vaisseaux et les protéines élastiques perpendiculairement à cet axe) explique pourquoi ils peuvent augmenter de diamètre mais pas de longueur. Le collagène est très résistant au cisaillement (18 $kg{\cdot}cm^{-2}$) ce qui entraîne une relation entre la tendreté de la viande et la quantité de collagène qui peut varier de 1 à 4 dans les muscles.

La tendreté est la plus importante des qualités organoleptiques de la viande, notamment pour les viandes rouges (bœuf et mouton). Elle est mesurée expérimentalement par cisaillement et/ou compression. Cette mesure est délicate en raison de la très grande complexité des phénomènes impliqués. Il existe une corrélation plus ou moins nette entre la quantité de tissu conjonctif et la tendreté, car ce n'est pas le seul facteur déterminant. La qualité du tissu conjonctif (le tissu conjonctif du jeune est plus « tendre » que celui de l'animal âgé) et sa répartition (pour deux muscles ayant la même quantité de collagène, la force de cisaillement nécessaire à la rupture est plus faible si la trame est plus fine) jouent également un rôle important.

La teneur du muscle en tissu conjonctif varie avec l'âge. Chez le bovin, il y a une augmentation de la teneur du muscle en tissu conjonctif (et donc du collagène) entre 15 et 18 mois, correspondant à la puberté et à peu près à la date d'abattage des taurillons dont la viande n'est pas spécialement tendre.

Il existe également des variations de la teneur en collagène du muscle d'origine génétique comme dans le cas des « culards ». Ils sont caractérisés par une musculature hypertrophiée, une macroglassie ainsi qu'une peau plus fine que la normale (< 30 % en poids) et des muscles moins riches en tissu conjonctif. C'est notamment le cas des muscles des quartiers avants, qui contiennent 25 à 30 % de tissus conjonctifs en moins que la normale, et sont donc plus tendres.

Une autre caractéristique de la molécule de collagène est son turn-over qui est très lent : on vieillit avec son collagène.

• *Stabilité thermique du collagène :* lorsque l'on chauffe du tropocollagène ou du collagène, d'importantes modifications des propriétés physiques apparaissent à des températures particulières (chute de viscosité, perte de la structure en hélice). La température pour laquelle la moitié de la structure hélicoïdale du tropocollagène est perdue s'appelle température de fusion (T_m). Pour des fibres de collagène intactes, un index équivalent est la température de contraction (T_S), température pour laquelle la fibre se raccourcit notablement. Le T_m et le T_S d'un collagène dépendent de sa composition en acides aminés ; ils sont corrélés avec la température corporelle de l'espèce.

• *Contraction hydrothermique du collagène :* les fibres natives de collagène sont pratiquement inextensibles. Chauffées en milieux aqueux, elles manifestent une brusque contraction à une température proche de 60 °C. À l'état contracté, la fibre de collagène présente une élasticité importante. Cette contraction, qui peut

représenter jusqu'à 75 % de la longueur de la fibre, s'accompagne d'une disparition du diagramme de diffraction aux rayons X (disparition de la structure cristalline). La contraction hydrothermique du collagène est la conséquence d'une dénaturation impliquant une dissociation des liaisons hydrogène, et une augmentation des liaisons hydrophobes et de l'hydratation. Le collagène est une des rares protéines dont l'affinité pour l'eau augmente avec la dénaturation : de 200 g d'eau pour 100 g de collagène, on passe à 1 000 g d'eau pour 100 g de collagène dénaturé, ce qui explique en partie l'amélioration de la tendreté.

En revanche, si on élève la température au-dessus de 60 °C, la chaleur rompt toutes les liaisons. La fibre de collagène se relâche, relargue de l'eau et perd son élasticité : la molécule est alors totalement dénaturée.

Tout ceci explique le rôle déterminant de la cuisson de la viande : à partir de 55 °C, les protéines sarcoplasmiques se dénaturent et libèrent de l'eau qui est récupérée en partie autour de 60 °C lors de la phase initiale de dénaturation du collagène. Pour obtenir une jutosité optimale des viandes rouges, la température de cuisson à cœur ne doit pas dépasser 60 °C (viandes saignantes). Dans le cas des marinades, le pH acide entraîne un gonflement des fibres de collagène, une augmentation de l'hydratation et donc une diminution de la force de cisaillement nécessaire à la rupture des fibres. La viande devient plus tendre mais ne peut plus être consommée comme viande à griller mais sous forme étuvée ou bouillie comme la daube.

Le sel augmente également la résistance thermique du collagène (les viandes salées bouillies sont toujours filandreuses et dures).

• *Solubilité hydrothermique du collagène :* Lorsque l'on chauffe du collagène en milieux aqueux, la structure des fibres est détruite au-dessus de 60 °C. Une fraction du collagène passe en solution : il se forme de la gélatine. Si, au cours du refroidissement, la concentration en gélatine est suffisante, on obtient un gel. La solubilité hydrothermique du collagène dépend de l'âge de l'animal.

• *Attaque enzymatique du collagène :* le collagène est très difficilement hydrolysé par les enzymes protéolytiques digestives. Seules quelques protéases spécifiques peuvent dégrader la molécule : la cathepsine B_1 qui attaque le collagène en bout de chaîne, la collagénase tissulaire qui agit en synergie avec la cathepsine B_1 et coupe la molécule de collagène en deux fragments (3/4 et 1/4), la collagénase de *Clostridium histolyticum* (gangrène gazeuse) coupe la molécule au niveau de plus de 200 sites.

Au cours de la maturation de la viande, l'hydrolyse du collagène est très faible car les enzymes lysozomales (cathepsines) ne sont pas en contact avec leur substrat (le collagène est à l'extérieur des cellules).

Deux voies sont alors possibles pour améliorer la tendreté de la viande en rapport avec sa composante conjonctive, l'une biologique et l'autre technologique. La voie biologique concerne la sélection génétique (animaux à faible quantité de collagène dans le muscle), la castration (éviter le pic de la puberté), le mode d'élevage (animaux qui font de l'exercice synthétisent moins de collagène) et l'âge de l'animal. Les leviers technologiques sont : l'attendrissage (difficile et à l'origine de risques

hygiéniques), le broyage et l'obtention de viande hachée, les marinades, la cuisson ou bien encore les traitements enzymatiques spécifiques tels que :

– le procédé Proten®aux États-Unis : injection de papaïne avant abattage ;
– l'utilisation de collagénases d'origine microbienne (*Clostridium histolyticum*) ;
– l'utilisation de collagénases tissulaires.

1.3.3. Autres protéines du tissu conjonctif

Ce sont essentiellement la réticuline et l'élastine. La réticuline est très semblable au collagène. L'élastine est encore plus résistante que le collagène aux traitements thermiques et à l'attaque enzymatique. Très peu abondante dans le muscle, elle se rencontre de façon permanente dans les parois des artères et dans certains ligaments élastiques. Elle contient deux acides aminés atypiques, la desmosine et l'isodesmosine, rencontrés également dans les protéines constitutives de la membrane coquillière de l'œuf.

1.4. Glucides

Viandes et poissons sont pauvres en sucres ; ces glucides qui servent surtout de réserve énergétique se retrouvent essentiellement sous la forme de granules de glycogène mais également, après la mort de l'animal sous forme de ribose provenant de la dégradation de l'ATP. La teneur en glycogène du muscle dépend de l'espèce, du type de muscle, de l'état physiologique de l'animal, et est globalement plus faible dans le muscle du poisson (1 % dans la viande et inférieur à 1 % dans le poisson).

1.5. Vitamines et minéraux

La teneur en vitamines des muscles de mammifères et celle du poisson sont très comparables à l'exception des vitamines A et D, présentes en quantités importantes dans la chair des poissons gras et dans le foie d'espèces maigres (cabillaud, flétan) mais présentes à l'état de traces dans la viande. Le poisson est une source intéressante en minéraux, et notamment en calcium, phosphore, fer et cuivre, et en iode pour les poissons de mer. La viande et notamment la viande de bœuf, est quant à elle intéressante pour son apport en fer.

2. Bases biologiques et physico-chimiques de la transformation du muscle

2.1. Contraction musculaire

2.1.1. Couplage de l'excitation et de la contraction

Le stimulus pour la contraction musculaire est un influx nerveux provenant du nerf moteur et arrivant à la plaque neuromotrice. Cet influx est transmis rapidement à tout le sarcolemme. Normalement, la différence de potentiel (ddp) entre l'intérieur et l'extérieur de la cellule musculaire est de + 60 mV. Au moment du passage de l'influx nerveux, la ddp disparaît : c'est la dépolarisation. Cette dépolarisation serait due à des modifications de perméabilité de la membrane cellulaire aux ions K^+, Na^+, et Ca^{2+}.

Pendant longtemps, on n'a pas compris comment toutes les myofibrilles de la fibre musculaire pouvaient se contracter simultanément. La diffusion d'un médiateur chimique du sarcolemme aux myofibrilles ne peut pas expliquer la rapidité de la réponse (< 1 s). La solution a été apportée par la microscopie électronique. Il existe des invaginations du sarcolemme qui courent au niveau de la strie Z au travers de la cellule musculaire, de telle sorte que ces tubules sont en contact étroit avec toutes les myofibrilles de la cellule. Ce système de tubules transverses est le système T (triade). Quand l'influx nerveux arrive au sarcolemme et que celui-ci subit la dépolarisation, l'ensemble du système T la subit également communiquant ainsi l'influx nerveux à tous les sarcomères de la fibre musculaire.

La microscopie électronique a également permis d'expliquer comment le changement électrique du système T pouvait se transformer en changement chimique dans les myofibrilles. Entourant chaque série de sarcomères adjacents, on trouve des vésicules à double membrane, orientées longitudinalement et présentant de nombreuses perforations. Chaque vésicule s'étend d'une jonction A-I à la suivante (figure 34). Cet ensemble de vésicules constitue le réticulum sarcoplasmique. Les compartiments internes des vésicules ou citernes sont reliés les uns aux autres par des canaux de connexion orientés transversalement ou citernes terminales. Des paires de citernes terminales parallèles courent au travers des myofibrilles en contact étroit avec le système T (triades).

Quand le sarcolemme est excité et le système T dépolarisé, la perméabilité des membranes voisines du réticulum sarcoplasmique augmente. Par conséquent, les ions Ca^{2+} s'échappent des citernes du réticulum dans le sarcoplasme ; le Ca^{2+} se fixe sur la troponine C ce qui atténue les effets de la troponine I et de la tropomyosine, favorise la formation de l'actomyosine et stimule l'activité ATPasique déclenchant ainsi la contraction musculaire. Dans le reste de la cellule, le manque de calcium empêche l'hydrolyse de l'ATP par la myosine. On estime que la concentration en Ca^{2+} dans le sarcoplasme du muscle au repos est inférieure à 1 µM. La concentration en Ca^{2+} minimum pour déclencher la contraction musculaire est de l'ordre de 10 µM.

2.1.2. Relaxation

Quand l'influx nerveux a traversé le réticulum sarcoplasmique causant une décharge d'ions Ca^{2+} dans le sarcoplasme, le sarcolemme et le réticulum sarco-

plasmique reviennent à leur état de polarisation initial (+ 60 mV entre l'intérieur et l'extérieur de la cellule). Le calcium est alors retenu dans les citernes du réticulum ; le muscle est prêt à recevoir une nouvelle excitation.

L'accumulation de calcium dans le réticulum sarcoplasmique résulte de l'action d'une pompe à calcium ATP-dépendante située dans les membranes des vésicules. Ce transfert peut se faire contre un gradient de concentration : il s'agit d'un transport actif. L'énergie nécessaire à ce transport provient de l'hydrolyse de l'ATP par des ATPases sarcoplasmiques, situées dans les membranes du réticulum. Les vésicules sont capables de pomper le calcium du milieu environnant jusqu'à une concentration en ions Ca^{2+} inférieure à 1 µM. Les ions Ca^{2+} des vésicules sont alors déversés dans le sarcoplasme à l'arrivée du nouvel influx.

2.1.3. *Sources d'énergie de la contraction musculaire*

Au cours de la contraction musculaire, il se forme de l'acide lactique et le taux de glycogène du muscle diminue. On a alors pensé que la glycogénolyse fournissait l'énergie nécessaire à la contraction musculaire. Mais si on inhibe cette voie métabolique, la contraction a quand même lieu. On a alors supposé que l'ATP était la source d'énergie, ce qui s'est également avéré faux pour deux raisons :

- la concentration en ATP du muscle est insuffisante pour fournir l'énergie nécessaire à la contraction. Par minute de contraction musculaire, il faut 10^{-3} mol d'ATP·g^{-1} de muscle. Or, celui-ci n'en contient que $5 \cdot 10^{-6}$ mol·g^{-1}, ce qui correspond à 0,5 seconde d'activité ;
- avant et après la contraction musculaire, les concentrations en ATP et ADP du muscle varient peu.

L'énergie nécessaire à la contraction musculaire est générée essentiellement par la phosphocréatine qui est un composé capable de stocker l'énergie, rencontré dans tous les muscles de vertébrés, à une concentration 4 à 5 fois supérieure à celle de l'ATP.

Le groupement phosphate de la phosphocréatine peut-être rapidement transféré à l'ADP grâce à l'action d'une créatine phosphokinase :

$$\text{Créatine-P} + \text{ADP} \leftrightarrow \text{Créatine} + \text{ATP} \qquad [14]$$

Au pH du sarcoplasme (pH 7), l'équilibre est déplacé vers la formation d'ATP aux dépens de la phosphocréatine. C'est pourquoi la concentration en ATP ne diminue pas au cours de la contraction musculaire. Si la glycolyse et la respiration sont bloquées, la phosphocréatine peut manquer et la concentration en ATP diminuer.

La rephosphorylation de l'ATP et de la phosphocréatine varient en fonction du type de muscle : pour les muscles très actifs ou muscles rouges qui contiennent beaucoup de myoglobine et de pigments respiratoires (cytochromes), la respiration est le principal fournisseur d'énergie *via* la phosphorylation oxydative comme par exemple les muscles du vol des oiseaux, ceux des jambes des mammifères coureurs, des muscles des poissons pélagiques. Pour les muscles peu actifs ou muscles blancs contenant peu de myoglobine et de pigments respiratoires (muscles pectoraux des oiseaux ou des poissons plats benthiques), la glycolyse est la principale source d'énergie.

Une partie de l'ADP peut également être convertie en ATP sous dépendance de l'adénylate kinase suivant la réaction suivante :

$$2\ ADP \leftrightarrow ATP + AMP \qquad [15]$$

2.2. Évolution du muscle après la mort

2.2.1. Transport des animaux

Aujourd'hui, les animaux ne sont plus abattus sur leur lieu de production, sauf dans le cas du poisson, les centres aquacoles réalisant l'abattage et l'éviscération. La réglementation impose que la mise à mort des animaux soit faite par des abattoirs spécialisés et agréés.

Le transport des animaux depuis le lieu de production jusqu'au lieu d'abattage se fait à l'aide de camions adaptés à chaque type d'animaux : bovins, porcs, volailles, ou encore poissons. Ils sont conçus pour éviter autant que possible le stress qui provoque l'épuisement du glycogène. Une fois arrivés à l'abattoir, les animaux doivent bénéficier d'un temps de « destressage » afin de reconstituer leur stock de glycogène et donner une viande de qualité.

Si, pour le poisson d'aquaculture, on peut de la même manière prévoir des conditions de prélèvement les moins stressantes possible en évitant de concentrer trop les poissons dans les bassins avant capture et en refroidissant l'eau de stockage des poissons avant abattage, il n'en est pas de même pour les poissons issus de la pêche qui subissent souvent de véritables stress avant la mort et peuvent se débattre pendant des heures dans un chalut, ce qui est préjudiciable à leur qualité. Ainsi, les poissons pêchés à la ligne sont de meilleure qualité que ceux capturés au chalut.

2.2.2. L'étourdissement et la mort

Avant la mort par saignée, les animaux sont anesthésiés de façon à leur éviter le maximum de souffrances. Cette anesthésie peut se faire par destruction des centres nerveux supérieurs à l'aide d'un pistolet d'abattage. Cette méthode concerne essentiellement les bovins et les équins. Pour les porcins, les ovins, et la volaille on utilise l'électronarcose à l'aide de pinces placées derrière la tête du porc ou de l'ovin et par passage du courant entre la tête et les pattes des volailles. L'anesthésie au CO_2 peut également être utilisée dans le cas du porc. Dans le cas du poisson, on utilise l'association du CO_2 et de l'eau refroidie, ou bien l'électronarcose.

La saignée qui entraînera la mort de l'animal se fait en ouvrant la carotide et la veine jugulaire chez les bovins et les ovins ou la veine cave antérieure chez les porcins. Cette méthode ne permet pas d'obtenir un sang de bonne qualité microbiologique. Seule, l'introduction d'un trocart dans la veine cave du porc et relié à un tuyau conduisant le sang jusqu'à un tank réfrigéré permet l'obtention d'un sang de bonne qualité. Depuis l'apparition de l'encéphalite spongiforme bovine (ESB ou maladie dite de la vache folle), le sang des bovins est éliminé et brûlé au niveau des cimenteries.

2.2.3. *État pantelant ou phase d'excitabilité musculaire*

2.2.3.1. *Généralités*

Dans les heures qui suivent l'abattage, les fibres musculaires sont capables de se contracter, mais de façon asynchrone. Les carcasses pantelantes sont ainsi animées de contractions fibrillaires spontanées, plus ou moins violentes et dont la fréquence et l'intensité diminuent avec le temps. Le mécanisme biochimique de ces contractions est identique à celui observé in vivo, mais l'excitant n'est plus l'influx nerveux. Les excitants peuvent être thermiques, mécaniques ou chimiques. La durée de cette phase dépend de la température : elle est maximum à 10 °C (3 h pour les carcasses de bovins en bon état).

C'est pendant cette phase que sont réalisées les opérations d'habillage (élimination du cuir), d'élimination des viscères et de finissage des carcasses (élimination de la graisse superficielle ou émoussage) qui sont également fendues en deux. Le muscle du poisson étant naturellement plus tendre car contenant moins de protéines du tissu conjonctif, peut-être travaillé indifféremment pendant la phase d'excitabilité musculaire (pré-rigor) ou pendant la phase de rigidité cadavérique. Cependant, il est préférable de fileter le poisson après la phase de rigidité cadavérique afin d'éviter les rétrécissements du filet et la perte accrue de liquide durant la congélation.

Immédiatement après l'abattage, la température des carcasses s'élève légèrement (quelques degrés). Cette élévation de température, qui peut s'expliquer par l'activation des différentes réactions biochimiques exothermiques dues au stress de l'abattage, peut avoir des conséquences néfastes sur la qualité de la viande. Dans le cas du poisson, la durée de cette première phase peut varier selon l'espèce, le mode de capture et la température de stockage après la mort (tableau 15) : de l'ordre de 30 min pour un cabillaud pêché au chalut et conservé à 30 °C, elle peut aller jusqu'à 22 h pour une rascasse du Nord, pêchée au chalut et stockée à 0 °C.

Tableau 15 ■ Apparition de la rigidité cadavérique chez différentes espèces de poisson (d'après Huss, 1988).

Espèce	**Condition**	**Température (°C)**	**Temps écoulé entre la mort du poisson et l'apparition de la rigidité cadavérique (h)**	**Temps écoulé entre la mort du poisson et la fin de la rigidité cadavérique (h)**
Cabillaud	Pêché au chalut	0	2-8	20-65
		10-12	1	20-30
		30	0,5	1-2
	Au repos (sans stress et effort)	0	14-15	72-96
Tilapia	Au repos	0-2	2-9	26,5
Grenadier	Pêché au chalut	0	< 1	36-55
Carrelet	Pêché au chalut	0	7-11	54-55
Lieu noir	Pêché au chalut	0	18	110

2.2.3.2. Classement des carcasses

Pour réaliser le classement des carcasses, plusieurs critères sont retenus en fonction des animaux. Chez les bovins, la conformation est exprimée par une lettre (SEUROP) qui permet d'apprécier le rendement en viande et la qualité de cette viande, en particulier la tendreté. Aux carcasses de meilleure qualité est attribuée la lettre S. L'état d'engraissement est exprimé par un chiffre (1.2.3.4.5.), le chiffre 1 correspondant aux carcasses les plus maigres. Chez le porc, l'état d'engraissement s'apprécie par une mesure de l'épaisseur de la bardière à l'aide d'un appareil automatique à rayonnement infrarouge. La couleur de la viande de veau est exprimée en comparaison d'étalons en plastiques de couleur allant du rose pale au rouge.

2.2.4. La rigor mortis *ou phase de rigidité cadavérique*

2.2.4.1. Modifications physiques

La *rigor mortis* ou phase de rigidité cadavérique s'installe progressivement avec la disparition de la phase précédente. Les muscles deviennent durs, inextensibles et les axes osseux sont difficiles à déplacer les uns par rapport aux autres. La solidification de la graisse consécutive à la baisse de température de la carcasse contribue également à augmenter la fermeté de la viande. La richesse en acides gras polyinsaturés des lipides du poisson permet de conserver le caractère fluide de sa matière grasse.

La *rigor mortis* s'installe dans un ordre déterminé : elle atteint d'abord la tête, le cou, les membres antérieurs, la région dorsale et les membres postérieurs.

2.2.4.2. Modifications biochimiques

In vivo, la circulation sanguine, par l'intermédiaire des pigments respiratoires (hémoglobine et myoglobine) alimente constamment le muscle en oxygène. Ce gaz maintient les conditions nécessaires au fonctionnement de la glycolyse aérobie et en particulier le fonctionnement du cycle de Krebs, de la chaîne de transfert des électrons et de la phosphorylation oxydative. En aérobiose, le glucose libre ou provenant du glycogène, est une source d'ATP très importante. La dégradation d'une molécule de glucose donne naissance à 36 molécules d'ATP. Les produits terminaux de sa dégradation sont le CO_2 et l'eau.

Après abattage, la circulation sanguine étant stoppée, l'oxygène n'arrive plus à la cellule musculaire : on passe donc rapidement en anaérobiose. Dans cette situation, le cycle de Krebs, la chaîne de transfert des électrons et la phosphorylation oxydative ne peuvent plus fonctionner. La production d'ATP se fait alors par glycogénolyse anaérobie, qui est une voie métabolique fournissant beaucoup moins d'énergie, la dégradation d'une molécule de glucose ne donnant plus naissance qu'à 2 molécules d'ATP. Le produit final obtenu après la mort de l'animal est l'acide lactique, qui s'accumule dans le muscle du fait de l'arrêt de la circulation sanguine, et contribue à l'abaissement du pH musculaire ; il s'agit de la manifestation la plus importante de la *rigor mortis*.

2.2.4.3. *Mécanismes de la* rigor mortis

Immédiatement après abattage, le muscle possède une réserve d'ATP suffisante ; elle permet de maintenir la dissociation de l'actine et de la myosine, et par suite l'élasticité du muscle. L'ATP hydrolysé est remplacé par de nouvelles molécules provenant de la glycolyse anaérobie. Il peut également être régénéré à partir de la créatine phosphate et de l'ADP, selon la réaction [14]. De nouvelles molécules d'ATP peuvent également être synthétisées directement à partir d'ADP (réaction [15]).

Conjointement à la production d'ATP, la glycolyse anaérobie produit de l'acide lactique qui s'accumule dans le muscle. Il en résulte un abaissement de pH qui commence par inhiber les ATPases sarcoplasmiques permettant aux ions Ca^{2+} de passer à l'extérieur des vésicules du réticulum. Quand la concentration en calcium dans le sarcoplasme dépasse 10 µM, l'activité ATPasique de la myosine débute. L'ATP est hydrolysé, l'actine se lie à la myosine (formation du complexe actomyosine) et la fibre musculaire devient rigide. Les réserves du muscle en ATP, phosphocréatine et glycogène s'épuisent petit à petit et l'accumulation régulière d'acide lactique dans le muscle contribue à abaisser le pH et à inhiber à son tour les enzymes de la glycogénolyse anaérobie. Il y a donc de moins en moins d'ATP synthétisé et l'actine se lie de plus en plus à la myosine. L'état de « contraction » de la cellule musculaire s'accroît et on arrive finalement à l'état de *rigor mortis*. À ce stade, le pH est de 5,8 environ (pH ultime). Pour passer de 7,3 à 5,8, il faut environ 100 µM d'acide lactique·g^{-1} de muscle, correspondant à une consommation de 50 µM de glucose.

Le temps d'obtention du pH ultime est fonction de différents facteurs : l'espèce, la race, le type de muscle, la température, etc. Il peut varier de 10 min chez un porc exsudatif à 48 h pour une grosse masse musculaire de bovin.

En général le pH ultime des poissons après installation de la *rigor mortis* se situe entre 6,2 et 6,5, ce pH est plus élevé que celui de la viande car le taux en glycogène est plus faible dans le poisson. Des exceptions existent, dans le cas du thon, son pH ultime est inférieur à 6 et celui des poissons plats peut descendre vers 5,5.

2.2.4.4. *Facteurs influençant la cinétique de la* rigor mortis

▶ TENEUR INITIALE DU MUSCLE EN GLYCOGÈNE

L'abaissement du pH de la neutralité à 5,5 au cours de l'installation de la *rigor mortis* est un facteur important de l'obtention d'une viande de bonne qualité. L'obtention de ce pH final est fonction du taux de glycogène présent dans le muscle au moment de l'abattage. Si cette réserve est trop faible, ce qui est le cas de beaucoup d'animaux ayant subi un stress majeur avant leur mort, le pH final du muscle sera insuffisamment bas après installation de la *rigor mortis*. On obtiendra alors une viande de mauvaise qualité tel le bœuf à coupe sombre (ou *dark cutting beef*, DCB).

▶ TAUX INITIAUX D'ATP ET DE PHOSPHOCRÉATINE

Les taux initiaux d'ATP et de phosphocréatine jouent un rôle prépondérant sur la vitesse d'établissement de la *rigor mortis*. Plus la réserve d'ATP et de phosphocréatine est importante au moment de l'abattage, plus la *rigor mortis* est lente à s'établir. En effet, celle-ci débute quand le taux d'ATP descend au-dessous de 90 %

2.2.4.3. *Mécanismes de la* rigor mortis

Immédiatement après abattage, le muscle possède une réserve d'ATP suffisante ; elle permet de maintenir la dissociation de l'actine et de la myosine, et par suite l'élasticité du muscle. L'ATP hydrolysé est remplacé par de nouvelles molécules provenant de la glycolyse anaérobie. Il peut également être régénéré à partir de la créatine phosphate et de l'ADP, selon la réaction [14]. De nouvelles molécules d'ATP peuvent également être synthétisées directement à partir d'ADP (réaction [15]).

Conjointement à la production d'ATP, la glycolyse anaérobie produit de l'acide lactique qui s'accumule dans le muscle. Il en résulte un abaissement de pH qui commence par inhiber les ATPases sarcoplasmiques permettant aux ions Ca^{2+} de passer à l'extérieur des vésicules du réticulum. Quand la concentration en calcium dans le sarcoplasme dépasse 10 μM, l'activité ATPasique de la myosine débute. L'ATP est hydrolysé, l'actine se lie à la myosine (formation du complexe actomyosine) et la fibre musculaire devient rigide. Les réserves du muscle en ATP, phosphocréatine et glycogène s'épuisent petit à petit et l'accumulation régulière d'acide lactique dans le muscle contribue à abaisser le pH et à inhiber à son tour les enzymes de la glycogénolyse anaérobie. Il y a donc de moins en moins d'ATP synthétisé et l'actine se lie de plus en plus à la myosine. L'état de « contraction » de la cellule musculaire s'accroît et on arrive finalement à l'état de *rigor mortis*. À ce stade, le pH est de 5,8 environ (pH ultime). Pour passer de 7,3 à 5,8, il faut environ 100 μM d'acide lactique·g^{-1} de muscle, correspondant à une consommation de 50 μM de glucose.

Le temps d'obtention du pH ultime est fonction de différents facteurs : l'espèce, la race, le type de muscle, la température, etc. Il peut varier de 10 min chez un porc exsudatif à 48 h pour une grosse masse musculaire de bovin.

En général le pH ultime des poissons après installation de la *rigor mortis* se situe entre 6,2 et 6,5, ce pH est plus élevé que celui de la viande car le taux en glycogène est plus faible dans le poisson. Des exceptions existent, dans le cas du thon, son pH ultime est inférieur à 6 et celui des poissons plats peut descendre vers 5,5.

2.2.4.4. *Facteurs influençant la cinétique de la* rigor mortis

▶ TENEUR INITIALE DU MUSCLE EN GLYCOGÈNE

L'abaissement du pH de la neutralité à 5,5 au cours de l'installation de la *rigor mortis* est un facteur important de l'obtention d'une viande de bonne qualité. L'obtention de ce pH final est fonction du taux de glycogène présent dans le muscle au moment de l'abattage. Si cette réserve est trop faible, ce qui est le cas de beaucoup d'animaux ayant subi un stress majeur avant leur mort, le pH final du muscle sera insuffisamment bas après installation de la *rigor mortis*. On obtiendra alors une viande de mauvaise qualité tel le bœuf à coupe sombre (ou *dark cutting beef*, DCB).

▶ TAUX INITIAUX D'ATP ET DE PHOSPHOCRÉATINE

Les taux initiaux d'ATP et de phosphocréatine jouent un rôle prépondérant sur la vitesse d'établissement de la *rigor mortis*. Plus la réserve d'ATP et de phosphocréatine est importante au moment de l'abattage, plus la *rigor mortis* est lente à s'établir. En effet, celle-ci débute quand le taux d'ATP descend au-dessous de 90 %

de sa valeur initiale. Si on curarise l'animal avant abattage ou si on le saigne sous anesthésie, on supprime toutes les causes de consommation d'ATP par excitation musculaire et la *rigor mortis* est très lente à s'établir. Au contraire, si on excite le muscle (par courant électrique par exemple) avant abattage, la *rigor mortis* s'établira rapidement.

▶ TEMPÉRATURE

Entre 37 °C et 5 °C, la *rigor mortis* est d'autant plus longue à s'établir que la température est basse, le froid ralentissant tous les processus biochimiques exothermiques dont le muscle est le siège. En revanche, pour la viande, en dessous de 5 °C, l'installation de la *rigor mortis* est aussi rapide qu'à 15 °C. Ce phénomène est dû à l'activation de l'activité ATPasique de l'actomyosine par le froid (vitesse multipliée par 300), qui s'accompagne du déclenchement de contractions et donc de raccourcissements plus ou moins importants selon le pH : c'est le phénomène de *cold shortening* ou contraction/raccourcissement au froid ou cryochoc. En effet, l'activité ATPasique de l'actomyosine est augmentée en présence d'ions Ca^{2+}. Or, sous l'action du froid, ces ions ne peuvent être maintenus à l'intérieur des vésicules du réticulum sarcoplasmique, car les ATPases sarcoplasmiques de la pompe à calcium ont un Q_{10} très élevé et sont donc ralenties par les basses températures. Dans le cas du poisson, et en particulier ceux vivant en eau froide, la température de réfrigération est recommandée pour ralentir l'entrée en phase de *rigor*. En revanche, chez certaines espèces tropicales, les températures de réfrigération ne sont pas indiquées pour allonger la phase de pré-*rigor*, on préférera une température proche de 20 °C.

Si on refroidit trop rapidement une carcasse après abattage, la contraction au froid peut se produire et la *rigor mortis* s'installer à l'état contracté. Des conséquences néfastes peuvent s'ensuivre sur les qualités de la viande et en particulier sa tendreté.

La température idéale de refroidissement admise généralement pour un muscle de mammifère est de 10 °C pendant les 10 h qui suivent l'abattage. Il s'agit de trouver un compromis pour éviter le phénomène de *cold shortening* et un développement bactérien trop important.

▶ AUTRES ÉVOLUTIONS DU MUSCLE APRÈS ABATTAGE

De l'abattage à l'établissement de la *rigor mortis*, on peut observer dans le muscle un abaissement du pH de la neutralité à 5,8 pour la viande et 6,2 pour le poisson, une diminution du potentiel d'oxydoréduction due à l'arrêt de l'alimentation en oxygène (après la mort, le muscle acquiert des propriétés réductrices), une augmentation de la conductivité, une perte totale de l'extensibilité et une diminution de la capacité de rétention d'eau. Cette dernière est la conséquence de la diminution du pH (le pH ultime de la viande est voisin du pH_i moyen des protéines du muscle) et de la libération d'ions Ca^{2+} qui écrantent les charges des protéines favorisant le resserrement du réseau myofibrillaire. Ce phénomène est très important car il conditionne la succulence de la viande et intervient à des degrés divers dans la perte de poids au cours du ressuage des carcasses et de la cuisson.

2.2.4.5. Rigor mortis *anormales et conséquences*

▶ VIANDE À COUPE SOMBRE (OU VIANDE FIÉVREUSE OU *DARK CUTTING BEEF*)

C'est une viande anormale, de couleur rouge sombre, fade au goût, peu appétissante et se conservant très mal (1 à 2 % des bovins, 5 à 10 % des taurillons). Son pH est anormalement élevé, les réserves en glycogène du muscle de l'animal étant épuisées avant la mort. La viande à coupe sombre se rencontre chez les animaux ayant subi un stress avant abattage et, d'autant plus fréquemment que les animaux sont jeunes. Le stress produit des décharges de catécholamines, ce qui accélère la glycogénolyse. C'est pour cette raison que l'on conseille le transport des animaux quelques jours avant l'abattage. L'administration de tranquillisants avant le transport est également efficace mais interdite par la réglementation. Le pH ultime élevé favorise une forte hydratation (texture collante), une couleur foncée (faible réflectance) et un développement microbien explosif. Les causes à l'origine de cette viande anormale peuvent être :

– une excitation avant abattage ;
– la race : la Limousine est plus sensible que l'Holstein ;
– le mode d'élevage : les animaux élevés en plein air fabriquent plus de glycogène et donnent moins fréquemment de viandes à coupe sombre.

▶ PORC EXSUDATIF (OU VIANDE « PISSEUSE » OU *PALE, SOFT AND EXSUDATIVE*, PSE)

La viande de porc exsudative est flasque, de couleur pâle et présente une mauvaise rétention d'eau. Après abattage, la température musculaire est anormalement élevée et le pH ultime est atteint très rapidement (parfois en 10 min). Le rendement technologique de la viande PSE peut être de 10 % inférieur à la viande de porc normale.

• *Causes* : chez le porc « normal », beaucoup de muscles sont riches en fibres blanches avec un métabolisme de type anaérobie producteur d'acide lactique. Chez le porc exsudatif, ce phénomène est exacerbé et la production d'acide très importante. Ces animaux présentent en plus un déséquilibre au niveau hormonal suite à une sélection génétique qui a favorisé les hormones anabolisantes (consommatrices d'énergies) plutôt que catabolisantes (génératrices d'énergie). Enfin, ils sont hypersensibles au stress suite à un défaut de perméabilité au calcium des membranes du reticulum sarcoplasmique et des membranes mitochondriales. De plus, le reticulum est anormalement sensible aux températures élevées qui entraînent de la même façon des relargages importants de calcium et des contractions musculaires violentes.

Un fort stress chez l'animal vivant peut donc avoir des conséquences graves qui se manifestent par de violentes contractions musculaires et une élévation de la température pouvant atteindre 43-44 °C et entraînant la mort de l'animal : c'est le syndrome d'hyperthermie maligne, et non la conséquence d'une faiblesse cardiaque de l'animal. Ce défaut est relativement fréquent chez les races culardes anciennes suite à une mauvaise circulation sanguine et à de grandes potentialités de production d'acide lactique. Il est plus rare chez les bovins car les systèmes de régulation ATPasiques y sont plus efficaces. Chez le porc, ce défaut est contrôlé par un gène

autosomal récessif. Seuls les animaux homozygotes mâles ou femelles présentent ce défaut qui dépend également de la race : il est fréquent chez le Landrace belge et le Piétrain, plus rare chez le Landrace français, et n'apparaît jamais dans la race Largewhite. Le mode d'abattage a également une influence sur l'apparition du défaut PSE (abattage généralisé dans de mauvaises conditions, animaux stressés). L'étourdissement des animaux par électronarcose est préférable à l'utilisation du CO_2 qui accentue des effets néfastes dus au stress.

• *Détection du défaut PSE in vivo* : la présence de ce défaut chez l'animal vivant peut s'effectuer par le test à l'halothane (ou fluothane). Ce gaz perturbe les mouvements du calcium chez le porc PSE, entraînant des relargages d'ions Ca^{2+} et de fortes contractions musculaires. L'animal devient raide, cyanosé et sa température augmente. L'arrêt de la respiration d'halothane permet à l'animal de récupérer. Il est également possible de réaliser la mesure de la créatine phosphokinase qui se trouve en quantité plus faible chez les porcs PSE.

• *Influence sur la qualité de la viande* : au moment de l'abattage (stress important), la glycogénolyse anaérobie produit de grosses quantités d'acide lactique. Du fait du déficit en corticoïdes surrénaliens vasodilatateurs, l'acide lactique formé est mal éliminé et s'accumule rapidement dans le muscle. La chute du pH, après la mort de l'animal est rapide et, du fait d'une température corporelle élevée, entraîne une profonde dénaturation des protéines musculaires qui perdent leur aptitude à retenir l'eau. Pour pallier la perte de rendement technologique, il faut refroidir la viande de porc PSE le plus rapidement possible après abattage. Le refroidissement à cœur est difficile ; il peut se faire par injection de saumure très froide (– 10 °C).

2.2.5. Résolution de la rigor mortis : *la maturation*

La maturation de la viande se traduit en pratique par une amélioration considérable de la tendreté. Deux fractions protéiques jouent un rôle essentiel sur la détermination de cette tendreté : les protéines du tissu conjonctif (collagène) et les protéines myofibrillaires. Au cours de la maturation, on n'a jamais pu mettre en évidence une évolution nette du tissu conjonctif. L'augmentation de la tendreté serait donc due essentiellement à la modification des protéines myofibrillaires. Durant la maturation, on observe :

- une destruction partielle des liaisons établies entre l'actine et la myosine au cours de la *rigor mortis* ;
- une altération de protéines myofibrillaires par les protéases intracellulaires ;
- une destruction partielle des liaisons entre les filaments fins d'actine et les stries Z.

2.2.5.1. Modifications physiques

Dès l'établissement de la *rigor mortis*, on peut observer plusieurs altérations histologiques au niveau des fibres musculaires : plissements, ondulations, renflements ou nœuds de rigidité. Au cours de la maturation, le sarcoplasme peut se rétracter, laissant passer au travers du sarcolemme de l'eau et des substances solubles. Enfin,

certaines fibres peuvent perdre leur structure (disparition de la striation) et présenter un aspect homogène. Ces modifications profondes n'intéressent cependant qu'un nombre restreint de fibres.

Au cours de la maturation, la force et le travail de cisaillement du muscle ainsi que la résistance à la force de compression diminuent parallèlement à l'augmentation de la tendreté. L'indice de cisaillement (sans dimension), relié à la dureté de la viande, s'exprime selon :

$$\alpha = \frac{W}{F_M \cdot l_0} \qquad [16]$$

W le travail de cisaillement (J), F_M la force maximum nécessaire pour assurer le cisaillement (N) et l_0 l'épaisseur initiale (m). Pendant la *rigor mortis*, α est toujours supérieur à 0,5. Après maturation il prend des valeurs comprises entre 0,1 et 0,2.

2.2.5.2. *Modifications biochimiques*

Les mécanismes biochimiques qui conduisent à la maturation de la viande sont encore assez mal connus. Ils résultent pour la plupart de la libération d'enzymes maintenues *in vivo* dans les lysosomes. Importants et essentiels chez le bœuf, ils le sont moins chez le porc qui se consomme frais ou après transformation (charcuterie). La maturation se réalise au froid afin de limiter le développement microbien. Chez le poisson, cette phase de maturation est très rapidement suivie par la phase d'autolyse et donc de putréfaction. En effet, l'activité enzymatique du poisson est plus intense que celle de la viande ; cette caractéristique est très largement mise à profit, notamment pour la fabrication de sauces du type Nuoc Mam ou pâtes fermentées. L'activité cathépsique d'un filet de poisson est près de dix fois supérieure à celle du muscle de porc.

▶ ÉVOLUTION DES FRACTIONS AZOTÉES

La cellule musculaire possède des organites spécifiques, entourés d'une membrane : les lysosomes. Ce sont des organites de dimensions variables ; entourés comme les mitochondries d'une triple membrane lipoprotéique, ils contiennent de nombreuses enzymes dont les plus importantes sont les cathepsines B, D, L et H. Ce sont des protéases acides, actives dans une gamme de pH comprise entre 4 et 6. Deux autres systèmes enzymatiques intracellulaires sont également impliqués dans la maturation de la viande : les calpaïnes et le protéasome. Après installation de la *rigor mortis* et l'obtention du pH ultime voisin de 5,5, environ 15 % des enzymes lysosomales seraient libérées et deviendraient actives. Elles sont en grande partie responsables de l'évolution du muscle au cours de la maturation, en particulier de l'acquisition de la tendreté définitive de la viande. Chez le poisson, cette question est moins cruciale car le pH ultime se situe à des valeurs plus élevées.

Durant la maturation, l'augmentation de l'azote non protéique de la viande est faible : au bout de 50 jours de maturation expérimentale au froid, cette augmentation n'est que de 6 %. En effet, il existe dans le sarcoplasme, des inhibiteurs des cathepsines et du CAF (*calpaïne activative factor*). L'activité protéolytique dans le muscle reste donc un phénomène discret. Le complexe actine-myosine qui s'était

formé lors de l'établissement de la *rigor mortis*, n'est que très peu altéré et le muscle reste inextensible. De plus, en fin de maturation, la quantité d'actomyosine extraite par une solution de force ionique élevée reste importante et souvent supérieure à celle extraite quelques heures après l'abattage (au sommet de la *rigor mortis*, elle diminue de 75 %). Ceci peut s'expliquer par une désagrégation des stries Z (solubilisation de l'α-actinine), qui permet ainsi une libération du complexe actomyosine et une augmentation de la pression osmotique intracellulaire qui atteint une valeur finale de 500 à 600 mOsmol (soit le double de la valeur physiologique normale). Une conséquence essentielle est le gain de tendreté de la viande. La vitesse de maturation de la viande varie en fonction de nombreux facteurs, dont le plus important est l'espèce animale.

Enfin, rappelons que les constituants protéiques du tissu conjonctif (collagène, réticuline, élastine) n'évoluent pratiquement pas au cours de la maturation. Seule la cathepsine B_1 aurait une légère action protéolytique sur le collagène.

Nous avons vu précédemment que la vitesse d'établissement de la *rigor mortis* dépendait du taux initial d'ATP dans le muscle. Aussitôt après la mort, l'ATP peut-être régénéré à partir de la glycogénolyse anaérobie, de la phosphocréatine (réaction [14]) et de l'ADP (réaction [15]). Lorsque le taux de phosphocréatine devient inférieur à 30 % de son taux initial, l'ATP se dégrade selon la cascade réactionnelle suivante :

$$\begin{gathered} \text{ATP} \rightarrow \text{ADP} + \text{P} \\ \text{ADP} \rightarrow \text{AMP} + \text{P} \\ \text{AMP} \rightarrow \text{IMP} + \text{NH}_3 \\ \text{IMP} \rightarrow \text{Inosine} + \text{P} \\ \text{Inosine} \rightarrow \text{Hypoxanthine} + \text{Ribose} \end{gathered} \qquad [17]$$

L'ammoniac, qui élève très légèrement le pH de la viande au cours de la maturation, et l'hypoxanthine sont les rehausseurs de flaveurs qui contribuent à donner à la viande son goût caractéristique. Quant au ribose, sucre réducteur, il intervient dans les réactions de Maillard apparaissant au cours de la cuisson de la viande.

La myoglobine subit également des modifications lors de la maturation. L'abaissement du potentiel d'oxydoréduction favorise la formation de myoglobine sous sa forme réduite de couleur rouge pourpre. En revanche, le pH acide est favorable à l'oxydation de la myoglobine en metmyoglobine de couleur marron. La coloration de la viande dépend de la proportion des trois pigments du muscle (myoglobine, oxymyoglobine, metmyoglobine) et de son état de surface (viandes à coupe sombre). La mesure de son intensité se fait à 525 nm, point *isobest* des trois pigments.

Le taux de matières azotées non protéiques est particulièrement élevé chez le poisson. Ces constituants se dégradent facilement et ceci dès la phase de maturation pour s'accentuer pendant la phase d'autolyse ou de putréfaction. Ces réactions de dégradation seront présentées lors de la description de phase d'autolyse.

► ÉVOLUTION DES GLUCIDES

Après installation de la *rigor mortis* et obtention du pH ultime, le glycogène résiduel subit une dégradation enzymatique en glucose :

Glycogène → dextrines → maltose → glucose [18]

Par ailleurs, le catabolisme des mucopolysaccharides est étroitement lié à l'activité des enzymes lysosomales (β-glucuronidases en particulier).

▸ ÉVOLUTION DES LIPIDES

Au cours de la maturation de la viande, on peut observer une faible lipolyse caractérisée par la libération d'acides gras à partir des triglycérides, essentiellement sous l'action des lipases microbiennes. L'augmentation du taux d'acides gras libres dans le muscle peut être à l'origine de défauts de goût, notamment si les acides gras libérés subissent des processus d'oxydation (rancissement). L'évolution des lipides ne pose des problèmes que pour les viandes congelées et en particulier pour les viandes de porc (viandes grasses et plus riches en acides gras insaturés), les processus d'oxydation des acides gras étant autocatalytiques et se poursuivant à basse température. L'oxydation des lipides limite également la conservation à l'état congelé des poissons gras, très riches en acides gras insaturés (maquereau, sardine, sprat, etc.).

2.2.6. *Phase d'autolyse ou de putréfaction*

L'autolyse correspond à une phase où la viande et le poisson ne sont plus consommables. Dans le cas du poisson, cette dernière phase intervient rapidement au cours de la maturation. Les constituants du muscle et en particulier la matière azotée non protéique sont dégradés. On peut citer les réactions de dégradation des nucléotides ([17]), les réactions de désamination et de décarboxylation des acides aminés libres (arginine en putréscine ou lysine en cadavérine par décarboxylation), la dégradation de l'oxyde de triméthylamine (OTMA) en triméthylamine ou en diméthylamine et formaldéhyde, la dégradation de l'urée en ammoniac et CO_2. Ces produits de dégradation sont à l'origine des odeurs nauséabondes du poisson en phase de putréfaction. Leur concentration est souvent utilisée comme indice de fraicheur ou d'altération du poisson.

3. *Technologie de la viande et du poisson*

3.1. Technologie de la viande

Les produits de charcuterie sont extrêmement divers, c'est pourquoi ne seront traités dans cette partie qu'un exemple de produit entier cuit, le jambon, et un exemple de produit déstructuré cru, le saucisson sec. Les autres produits classés selon le code des usages de la charcuterie, de la salaison et des conserves de viandes sont présentés dans le tableau 16. Ils sont classés en fonction de leurs matières premières et du processus technologique.

3.1.1. *Fabrication du jambon*

La fabrication du jambon est une des technologies les plus répandues. Certains jambons sont crus et traités en salaison au sel sec (jambon cru de pays, jambon sec,

Tableau 16 ■ Classification des produits de charcuterie et de salaison (Code des usages, 1997).

Catégorie	Type de produit
1,2,3	Pièces et morceaux 1. pièces crues, salées, saumurées, étuvées et/ou fumées 2. pièces crues maturées/séchées 3. pièces et morceaux de viandes cuits
4,5,6	Saucisses et saucissons 4. chair à saucisse, saucisses et saucissons crus ou précuits 5. saucisses et saucissons secs 6. saucisses et saucissons cuits
7	Pâtés, mousses, terrines, crèmes, galantines, ballottines, confits de foie
8	Rillettes, frittons, grattons
9	Produits à base de tête et ou langue
10	Andouilles, andouillettes
11	Tripes, tripoux, pieds
12	Boudins noirs
13	Boudins blancs, quenelles
14	Conserves à base de viandes bovines
15	Foies gras et produits à base de foie gras
16	Autres produits

jambon de Bayonne ou de Parme), d'autres sont cuits : jambon à l'os (cuit avec l'os), jambon d'York (maturation pendant plus d'une semaine avant cuisson, cuit avec ses os), jambon braisé, au bouillon, au torchon. Ces jambons sont dits *supérieurs*, c'est-à-dire sans ajout d'additifs aidant à la rétention de l'eau au cours de la cuisson (polyphosphates, sucres, carraghénanes, etc.), ou dits *de choix* lorsque des polyphosphates sont ajoutés. À titre d'exemple, la technologie de fabrication du jambon cuit au bouillon dit supérieur repose sur les étapes suivantes :

▶ CHOIX DE LA MATIÈRE PREMIÈRE

En préalable à l'application des technologies de fabrication, il faut veiller à la fraîcheur du produit, au respect de la chaîne du froid pendant le transport, à l'absence de défaut d'aspects (hématomes, couennes déchirées, etc.) et enfin éviter les viandes à bas pH (absence de viandes PSE ; pH < 5,7). Ce dernier point est essentiel, le pH conditionnant fortement la qualité du jambon et le rendement technologique.

▶ PRÉPARATION DE LA VIANDE OU PARRAGE

La préparation des muscles consiste en la séparation du jarret, au découennage/dégraissage externe intégral, au désossage, au parage interne (c'est-à-dire à la séparation des trois noix) et à l'épluchage soigné de celles-ci.

▶ INJECTION DE LA SAUMURE/ATTENDRISSAGE

Les saumures contiennent un certain nombre d'ingrédients/additifs, tels que :

- le sel (NaCl) qui permet de ralentir la croissance des bactéries par baisse de l'a_w, favorise la solubilisation et augmente ainsi les propriétés technofonctionnelles des protéines musculaires (pouvoir émulsifiant, liant, etc.), apporte un goût salé et rehausse la flaveur ;
- les sels nitrités (NO_2, NO_3) qui jouent un rôle sur la couleur (réaction de l'oxyde d'azote [NO] sur la metmyoglobine), sur la flaveur, sur la croissance des micro-organismes (ils inhibent notamment la croissance de *Clostridium botulinum*) ;
- les sucres (dextrose, saccharose, etc.) qui servent de milieu nutritif aux bactéries responsables de la réduction du nitrate en nitrite ; ils contribuent également à la flaveur des produits de salaison ;
- l'ascorbate de sodium, catalyseur de la réaction de réduction de NO_2 en NO, qui protège la myoglobine de l'oxydation ;
- des arômes variés (oignons, laurier, thym, etc.) ;
- et enfin l'eau qui permet l'hydratation du produit et apporte une texture moelleuse après cuisson du produit.

La saumure est injectée dans les muscles par un système de multi-aiguilles. Pendant cette phase, on réalise également un attendrissement par sabrage (système de petites lames qui incisent en partie les lames conjonctives), afin d'atténuer la contraction du collagène durant la cuisson, et favoriser la sortie du contenu cellulaire en cours du malaxage.

▶ MALAXAGE OU BARATTAGE

Cette opération consiste à faire remonter en surface du muscle une quantité suffisante de protéines musculaires solubles afin qu'elles coagulent en cuisson, cimentent les muscles entre eux (obtention d'un limon superficiel) et permettent ainsi une meilleure tenue du jambon.

▶ MOULAGE/MATURATION/CUISSON

Le moulage est effectué sous vide sur des pièces individualisées (1 unité = 1 jambon) ou sur des pièces regroupées (jambon en barres). Après moulage, une phase de maturation est souvent nécessaire afin d'améliorer les caractéristiques organoleptiques (maturation à 4 à 5 °C pendant 24 à 48 ou 72 h). La cuisson peut-être effectuée à l'eau ou à la vapeur, à température constante (68 à 70 °C) ou à température croissante par paliers (1er palier à 60-62 °C pendant 5 à 7 h, coagulation en périphérie des protéines sans trop contracter le collagène ; 2e palier à 68-70 °C afin d'atteindre 65 à 66 °C à cœur).

▶ REFROIDISSEMENT

Il est réalisé en deux étapes. Une première étape en fin de cuisson par douchage intensif à l'eau permet le refroidissement à température ambiante (1 à 2 h pour

atteindre 55 °C). Une deuxième étape plus intense, de longue durée à 2-3 °C pendant 48 à 72 h. Cette phase permet le raffermissement du gel protéique coagulé (mix de coagulum de protéines intracellulaires/gel de collagène), améliore la tenue en tranche et le rendement technologique, et limite enfin l'exsudation post-tranchage. Il permet également d'éviter tout développement microbien.

▶ DÉMOULAGE/DÉCONDITIONNEMENT/RECONDITIONNEMENT

Le démoulage et déconditionnement sont indispensables car l'eau ou le jus de cuisson doivent être éliminés avant l'emballage final du jambon. Cette étape doit être réalisée dans d'excellentes conditions hygiéniques (salle blanche), car il faut éviter à ce stade de contaminer le produit qui sera consommé en l'état.

3.1.2. Fabrication du saucisson sec

Le saucisson sec est un produit cru, salé, divisé, fermenté et séché. Il s'agit d'une préparation de charcuterie composée principalement de maigre aux deux tiers environ et de gras (un tiers). Le maigre peut provenir d'espèces animales différentes (bœuf et porc le plus fréquemment). Le gras, de porc généralement, doit être ferme et non huileux (bardière, gras de couverture de jambon, etc.).

Le procédé de fabrication débute par le présalage éventuel du maigre (au sel et au nitrate) et/ou du gras (au sel seul) avant la fabrication de la mêlée. Celle-ci s'obtient après broyage du maigre à une température légèrement supérieure à 0 °C et du gras à une température légèrement inférieure à 0 °C, et leur malaxage en présence d'additifs (sel, sucres, et nitrates ou sels nitrités). La mêlée est laissée au repos pendant quelques heures à 0-5 °C (action des additifs sur les protéines) avant d'être embossée en boyau naturel ou artificiel. Une flore externe (fleur de surface) est alors appliquée et se développe pendant l'étuvage (1 à 5 jours, H_R de 85 à 90 %, température de 20 à 28 °C), qui accessoirement amorce la déshydratation. L'ensemble est ensuite séché pendant 4 à 6 semaines dans un séchoir (température 12-16 °C, H_R 75-85 %).

La bonne évolution du produit repose sur une série de transformations physiques, chimiques et bactériologiques successives ou simultanées.

3.1.2.1. Modifications de l'apparence physique du saucisson sec

L'apparence physique du saucisson se modifie au cours de l'étuvage et du séchage. La pâte, parfois d'aspect brun en raison de l'oxydation de la viande par le sel, se colore en rouge sombre par formation de nitrosomyoglobine. Elle se raffermit grâce à la coagulation des protéines sous l'action de l'acidification et de la déshydratation. Par ailleurs, le boyau se rétracte laissant apparaître les grains de gras qui font saillie.

3.1.2.2. Modification de l'a_w

L'a_w du produit évolue durant les différentes phases du procédé de fabrication. Juste après salage, le sel se dissout à la périphérie des grains et provoque une dimi-

nution locale de l'a_w de 0,98 à 0,93, puis l'a_w remonte à 0,96 après dissolution complète du sel ; durant l'étuvage et après le séchage, l'a_w chute à 0,85.

3.1.2.3. Évolution du pH

L'évolution du pH est une caractéristique importante dans la fabrication du saucisson sec. Durant la phase d'étuvage, une chute de pH est provoquée par la production d'acides organiques (en particulier d'acide lactique) par des micro-organismes acidifiants (tels lactobacilles, staphylocoques, streptocoques, etc.) à partir des sucres de la viande et des sucres ajoutés dans l'assaisonnement. Cette acidification est importante car elle sélectionne une flore acidophile utile à la fabrication du saucisson, favorise la coagulation des protéines solubilisées (association des grains de gras et de maigre), réduit la teneur en glucides et le pouvoir de rétention d'eau des protéines, ce qui facilite le séchage. En revanche, elle peut entraîner le développement de goûts acides, inhiber certains micro-organismes et certaines réactions enzymatiques responsables de l'arôme et favoriser une déshydratation excessive.

3.1.2.4. Évolution du potentiel d'oxydoréduction

Lors de la fabrication de la mêlée, la pâte est fortement oxygénée et le potentiel d'oxydoréduction est élevé. Pendant la phase de maturation la multiplication des germes épuise l'oxygène et le milieu devient anaérobie. Le potentiel d'oxydoréduction diminue alors, favorisant le développement des germes utiles (lactobacilles, staphylocoques, etc.).

3.1.2.5. Évolution des protéines

Les protéines subissent plusieurs modifications au cours du procédé de fabrication : le salage provoque leur solubilisation, l'acidification entraîne leur précipitation (ce qui favorise la cohésion de la pâte), et la protéolyse enzymatique entraîne au cours de la phase de maturation la production d'acides aminés, de peptides, d'ammoniac et d'amines responsables des qualités organoleptiques du saucisson.

3.1.2.6. Évolution des lipides

Dans un premier temps, la lipolyse entraîne la libération d'acides gras libres à partir des glycérides. Dans un deuxième temps, un rancissement oxydatif peut intervenir. La réaction est catalysée par la lumière, l'oxygène, la température, la présence d'oxydants (sels, nitrates, métaux). Des alcools, des cétones et des aldéhydes responsables de goûts rances sont alors produits.

3.1.2.7. Évolution de la flore microbienne interne

Au départ, la mêlée est contaminée naturellement par des micro-organismes variés. Cette contamination doit toutefois rester faible (10^6 germes par gramme au maximum). Les micro-organismes présents proviennent des diverses manipulations à l'abattoir et à la découpe ; cette flore est donc très complexe et variable d'un ate-

lier à l'autre. Au cours du procédé de fabrication et de la maturation du saucisson, ces micro-organismes se développent suivant leur tolérance aux conditions du milieu (température, teneurs en sels, pH, potentiel redox).

Le saucisson sec est un produit fermenté tirant ses caractéristiques organoleptiques de la fermentation, mais qui doit être stable à température ambiante. Aussi, il est indispensable de détruire les germes indésirables, tout en favorisant la croissance des germes utiles à la conservation du produit et à l'acquisition des qualités organoleptiques. On classe généralement la flore du saucisson sec en quatre catégories (tableau 17) :

- *la flore utile*, acidifiante et réductrice : joue un rôle dans l'acidification du produit et permet l'inhibition des bactéries nuisibles. Elle favorise la réduction des nitrates, qui en réagissant avec la metmyoglobine, donne leur coloration rosée aux charcuteries. Elle intervient également dans la lipolyse et la protéolyse nécessaire à la libération de composés aromatiques ;
- *la flore indésirable* : correspond à la flore pathogène susceptible de survivre en fin de procédé et de provoquer des intoxications alimentaires ;
- *la flore d'altération* : entraîne souvent des défauts de fabrication (production de gaz et d'odeurs désagréables) ;
- *la flore indifférente* : bien que présente en quantité non négligeable, ne joue aucun rôle connu dans la fabrication du saucisson.

Tableau 17 ■ Composition des différentes flores rencontrées au cours de la fabrication du saucisson sec.

Type de flore	Micro-organismes	Rôle ou effet
Flore utile	Flore lactique (*Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*)	Fermentation (sucres)
	Micrococoques et *Staphylocoques* non pathogènes	Fermentation (glucose, lactose) ; réduction (nitrate en nitrite) ; lipolyse
	Les levures	Lipolyse ; formation de composés aromatiques
Flore pathogène	Coliformes fécaux et anaérobies sulfito-réducteurs, *Staphylococcus aureus*, Salmonelles	–
Flore d'altération	*Leuconostoc*, *Pseudomonas*, Entérobactéries, *Clostridium*	Formation de gaz
Flore indifférente	Streptocoques fécaux (groupe D), *Bacillus*, *Corynebacterium*, *Microbacterium*,	–

3.1.2.8. Évolution de la flore microbienne externe

Après embossage, les saucissons sont recouverts d'une flore que l'on appelle *fleur de surface*. Il s'agit de moisissures du genre *Penicillium (nalgiovensis, chrysogenum blanc, caseicolum, candidum*, etc.) et de levures (*hansenii, prisca*, etc.), qui empêchent le développement des fleurs naturelles de couleur variées (vert, gris, marron, jaune, bleu).

En conclusion, l'ensemble des transformations physiques, chimiques et microbiologiques intervenant dans le procédé de fabrication permettent au saucisson sec d'acquérir de nombreuses caractéristiques organoleptiques mais également de se conserver à température ambiante. Le principe de conservation est très bien expliqué et résumé par le principe des obstacles (Leistner, 1985), montrant la complémentarité des principaux facteurs de conservation du saucisson sec précédemment évoqués (figure 40).

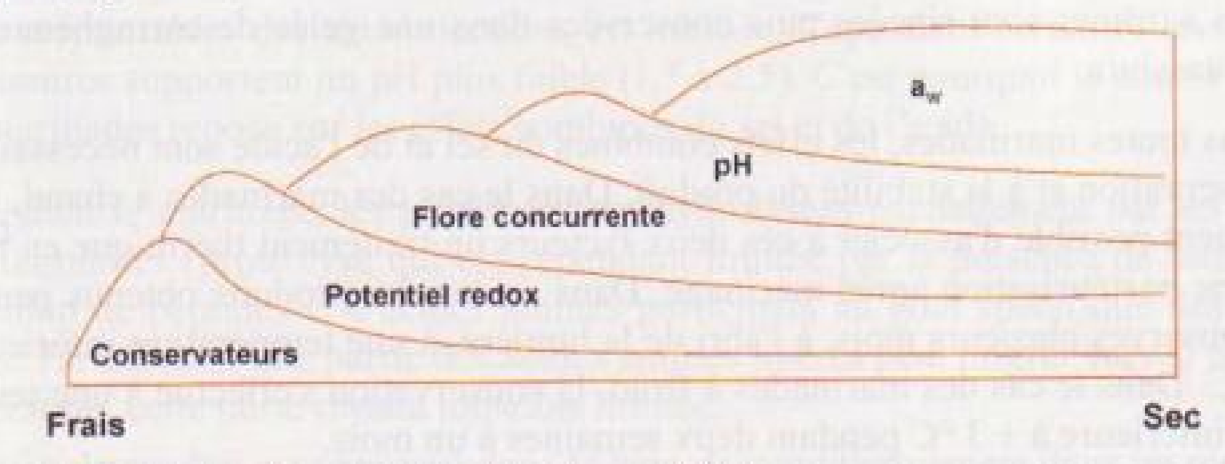


Figure 40 ■ Principe des obstacles (Leistener, 1985).

3.2. Technologie du poisson

Le poisson peut également subir de nombreuses transformations afin de le stabiliser ou de le valoriser sous des formes très diverses. Cependant, la majorité de la production est commercialisée sous forme de poissons entiers ou en filets, simplement réfrigérés ou congelés. Les coquillages et crustacés sont eux aussi très souvent peu transformés puisqu'ils sont vendus vivants dans la majorité des cas. Lorsqu'ils subissent une transformation plus poussée, les produits halieutiques se retrouvent sous la forme de produits salés, séchés, fumés, marinés ou bien de produits à tartiner, type charcuterie de la mer, beurre, crème, tarama (à base d'œufs de cabillaud), ou rillettes. Enfin, le poisson peut également être transformé, selon un procédé de transformation typique des produits halieutiques, le *surimi*. Comme pour la viande, nous ne pourrons traiter de l'ensemble des technologies. Nous ne présenterons donc dans cette partie que la fabrication des marinades et celle du *surimi*.

3.2.1. Fabrication des marinades

Le marinage est un procédé de stabilisation du poisson permettant simultanément de donner au produit des qualités organoleptiques spécifiques et recherchées. Il consiste à immerger un poisson entier ou en filet, mais aussi des chairs de coquillages, dans une marinade, c'est-à-dire une solution contenant un acide et

du sel. En France, on utilise principalement le vinaigre, mais il peut être remplacé par tout acide organique autorisé en agroalimentaire (par exemple l'acide acétique). D'autres ingrédients comme le sucre, les épices et les condiments sont également très souvent ajoutés dans la marinade.

Durant le marinage, une partie de l'eau de constitution du produit est substituée par la marinade. Il en existe plusieurs types :

- les *marinades à froid* (type rollmops, filet de hareng mariné enroulé autour d'un condiment) ;
- les *marinades à chaud* (type coquillages) ; le décoquillage se fait par cuisson et les chairs sont ensuite mises dans la marinade ;
- les *marinades frites* (type marinade de merlan) ; le poisson est frit dans l'huile puis le conditionnement est réalisé dans la marinade ;
- les *marinades en gelée* (type sardine) ; après macération dans la marinade, les sardines sont rincées puis conservées dans une gelée de carraghénane de potassium.

Dans toutes marinades, les effets combinés du sel et de l'acide sont nécessaires à la conservation et à la stabilité du produit. Dans le cas des marinades à chaud, il est également possible d'associer à ces deux facteurs un traitement thermique en réalisant une pasteurisation après marinage. Dans ce cas, les produits obtenus peuvent être conservés plusieurs mois, à l'abri de la lumière, à une température inférieure à + 15 °C. Dans le cas des marinades à froid, la conservation s'effectue à une température inférieure à + 3 °C pendant deux semaines à un mois.

Le marinage se déroule en 2 phases :

- immersion du produit, pendant plusieurs jours, dans un « bain de macération » composé de vinaigre (5 à 10 % d'acide acétique) et de sel (10 à 15 %). Le poisson acquiert une texture et une flaveur caractéristiques ;
- lavage du produit puis immersion dans un bain de conservation ou de conditionnement composé de vinaigre (1 à 2 % d'acide acétique), de sel (entre 2 et 4 %) et aromatisé avec des épices et parfois additionné de sucres.

Au cours du marinage deux phénomènes sont observés :

- un ramollissement caractéristique des chairs de poisson essentiellement dû à la protéolyse par les enzymes autolytiques tissulaires du poisson ;
- l'élimination de l'eau et la coagulation des protéines des tissus en raison de la teneur en acide et en sel.

3.2.1.1. *Action du sel*

La vitesse de pénétration du sel dans la chair s'exprime suivant la loi de Fick (cf. chapitre 9 du premier volume). Elle est fonction de la concentration en sel de la saumure, du coefficient de diffusion du sel, de la température à laquelle est réalisée l'étape de salage, de la conductibilité du muscle. Le sel a plus de difficultés à migrer à travers une chair grasse mais en revanche, pénètre plus rapidement dans les couches internes si le poisson a un peu maturé (meilleure conductibilité du muscle).

Au début du salage lorsque la concentration en sel est entre 2 et 5 %, la quantité d'eau liée aux protéines augmente (gonflement), on parle de turgescence. En effet, l'augmentation de la force ionique favorise l'apparition de charges négatives à la surface des protéines ce qui provoque une augmentation des forces de répulsion à l'intérieur et entre les chaînes polypeptidiques et une augmentation de leur eau d'hydratation. Au fur et à mesure de l'augmentation de la concentration en NaCl (entre 3 et 12 %), les protéines myofibrillaires se solubilisent, puis au-delà de 12 %, certaines protéines précipitent (albumines, par exemple). Aux concentrations salines voisines de la saturation, la quasi-totalité des protéines ont précipité (*salting out*).

3.2.1.2. *Action de l'acide*

L'acide pénètre plus rapidement que le sel dans les chairs. Il permet d'inhiber la croissance de certains micro-organismes en abaissant le pH des chairs. Le pH des marinades est habituellement de 4,5. À ce pH, la croissance de la majorité des bactéries responsables des toxi-infections est inhibée. Cependant certaines levures et moisissures supportent un pH plus faible (1,5 à 2,5). C'est pourquoi la conservation des marinades repose sur les effets combinés du sel et de l'acide.

Pendant le marinage, les protéines sont hydrolysées partiellement par les enzymes tissulaires (protéolyse qui est cependant limitée par la présence de sels) avec libération de peptides et d'acides aminés participant au goût spécifique des marinades. Par ailleurs, une partie des acides aminés libérés peut migrer vers le bain de macération, cette perte restant toutefois limitée.

Enfin, le produit est conservé dans le bain de conditionnement dans un récipient étanche, résistant à l'acide. En France, on utilise principalement des pots de verre avec bouchon en métal devant résister aux produits agressifs ou capsule plastique, des seaux avec couvercle en plastique et des barquettes en plastique avec opercule thermosoudé.

3.2.2. *Fabrication du surimi*

Le *surimi*, terme japonais, désigne la chair de poisson broyée et lavée, fabriqué soit à partir de poissons entiers, soit à partir de filets de poissons pêchés exclusivement pour sa fabrication. Le surimi fabriqué à partir des filets de poissons produit une base protéique de meilleure qualité. Après addition de sel et traitement thermique du surimi-base, on forme un gel de protéines appelé *kamaboko*, dont l'application principale est le bâtonnet de crabe. D'autres produits à base de surimi existent, comme les succédanés de queues de langouste et de noix de Saint-Jacques, etc.

3.2.2.1. *Fabrication du surimi-base*

Le surimi-base peut-être fabriqué à partir de poissons maigres ou gras. Même si les poissons maigres (colin d'Alaska, merlan bleu, tacaud, etc.) sont plus largement utilisés car ils permettent la fabrication d'un surimi de couleur claire, première qualité requise, on peut également fabriquer du surimi à partir d'espèces grasses mal valorisées, en raison de leurs qualités organoleptiques moyennes (cas de la sardinelle par exemple). L'utilisation d'espèces grasses est plus délicate, car malgré

les nombreux lavages de la chair de ces poissons, notamment dans une solution aqueuse d'ozone, un surimi de couleur plus foncée est obtenu : sa valorisation est plus difficile en fabrication de kamaboko type bâtonnet de crabe. La deuxième qualité du surimi-base repose sur ses propriétés technofonctionnelles, en particulier gélifiantes, émulsifiantes et moussantes. Pour cela, il est indispensable de fabriquer le surimi à partir d'une matière première très fraîche. Pour cette raison, il est le plus souvent fabriqué directement à bord de navires usines.

Le procédé de fabrication est basé sur une succession de lavages de la chair de poisson avec de l'eau ou des solutions de faible force ionique, de façon à éliminer les protéines sarcoplasmiques (enzymes, pigments, sang, composés hémiques). La pulpe ainsi lavée contient les protéines myofibrillaires (actine et myosine) et les protéines du tissu conjonctif (collagène pour l'essentiel, réticuline et élastine). Elle est essorée et additionnée de cryoprotecteurs, comme le sucre ou des polyols (sorbitol), et de polyphosphates. Puis le surimi est congelé à – 20 °C, sous forme de plaques de 20 kg (figure 41).

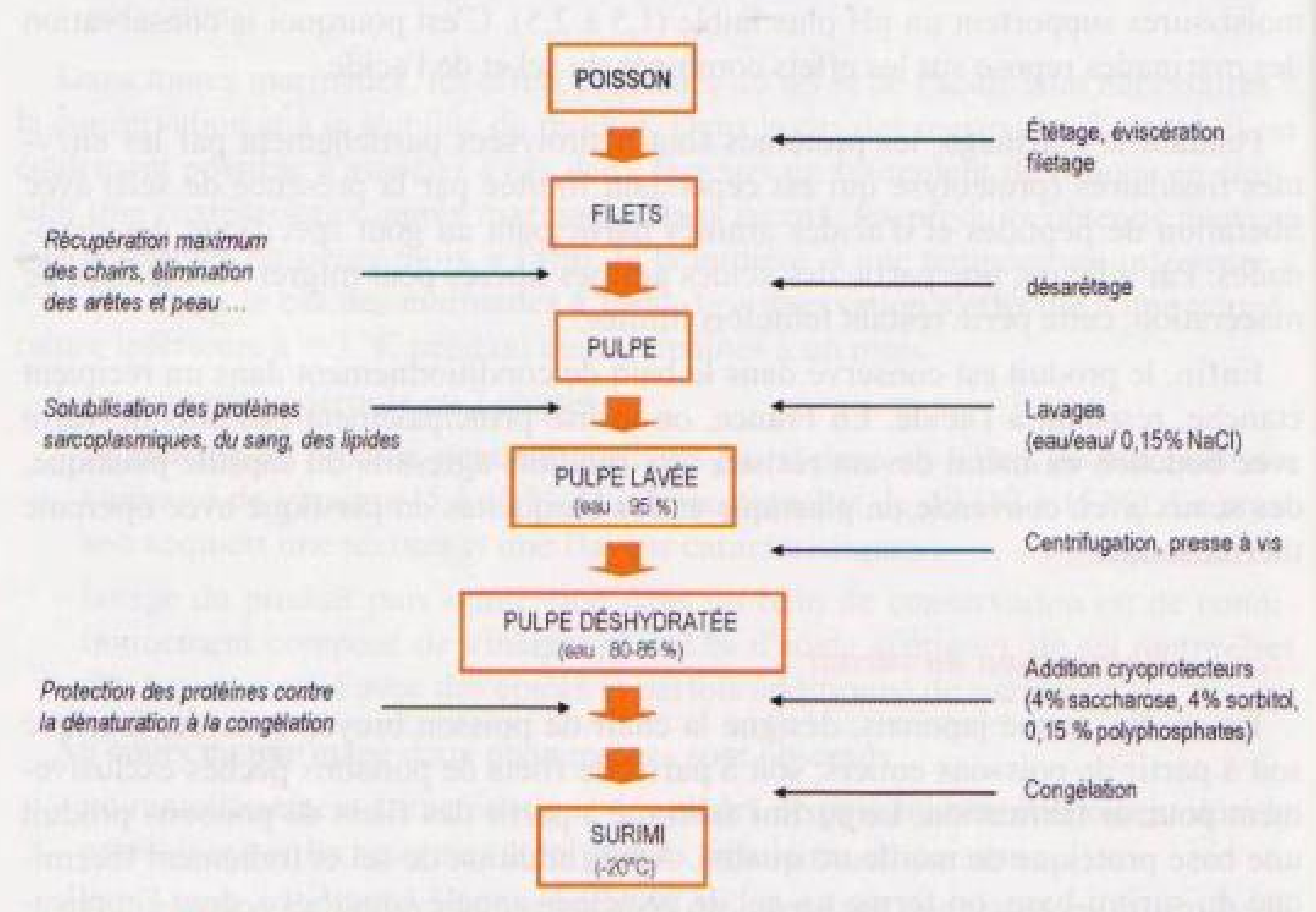


Figure 41 ■ Procédé de fabrication du surimi-base.

La composition du surimi base est intéressante d'un point de vue nutritionnel puisqu'il est riche en protéines (≈ 16 %), pauvre en lipides (< 0,2 %) ; les opérations de lavage réduisent toutefois la teneur en vitamines (B_{12}) et en minéraux (K^+).

3.2.2.2. *Fabrication des produits type kamaboko*

Le kamaboko est obtenu après thermogélification des protéines du surimi-base. Le principe de fabrication repose sur la solubilisation des protéines essentiellement

myofibrillaires (actine et myosine, mais également tropomyosine, troponine) par action du sel, puis sur la dénaturation de ces protéines par traitement thermique. L'élévation de température provoque la formation d'un réseau protéique ordonné suite à l'agrégation des protéines dénaturées. La qualité du gel ainsi produit (force de gel) dépend :

– du maintien des protéines dans leur état natif avant traitement thermique, qui impose l'utilisation d'une matière première la plus fraîche possible ;
– des conditions de chauffage pendant la phase de gélification.

On peut résumer les différentes phases de la fabrication du kamaboko de la façon suivante :

– dissociation du complexe actine F/myosine ;
– dissociation du complexe actine F/tropomyosine/troponine ;
– déplissement de l'α-hélice de l'actine F ;
– dissociation de la myosine en chaînes lourdes et légères ;
– déplissement partiel de l'α-hélice de la chaîne lourde de la myosine ;
– formation de nombreuses associations intermoléculaires résultant d'interactions hydrophobes par démasquage des résidus hydrophobes ;
– et enfin, agrégation des chaînes lourdes de myosine par interactions hydrophobes et par formation de ponts disulfures.

Il est préférable de réaliser la gélification des protéines à deux températures différentes (figure 42).

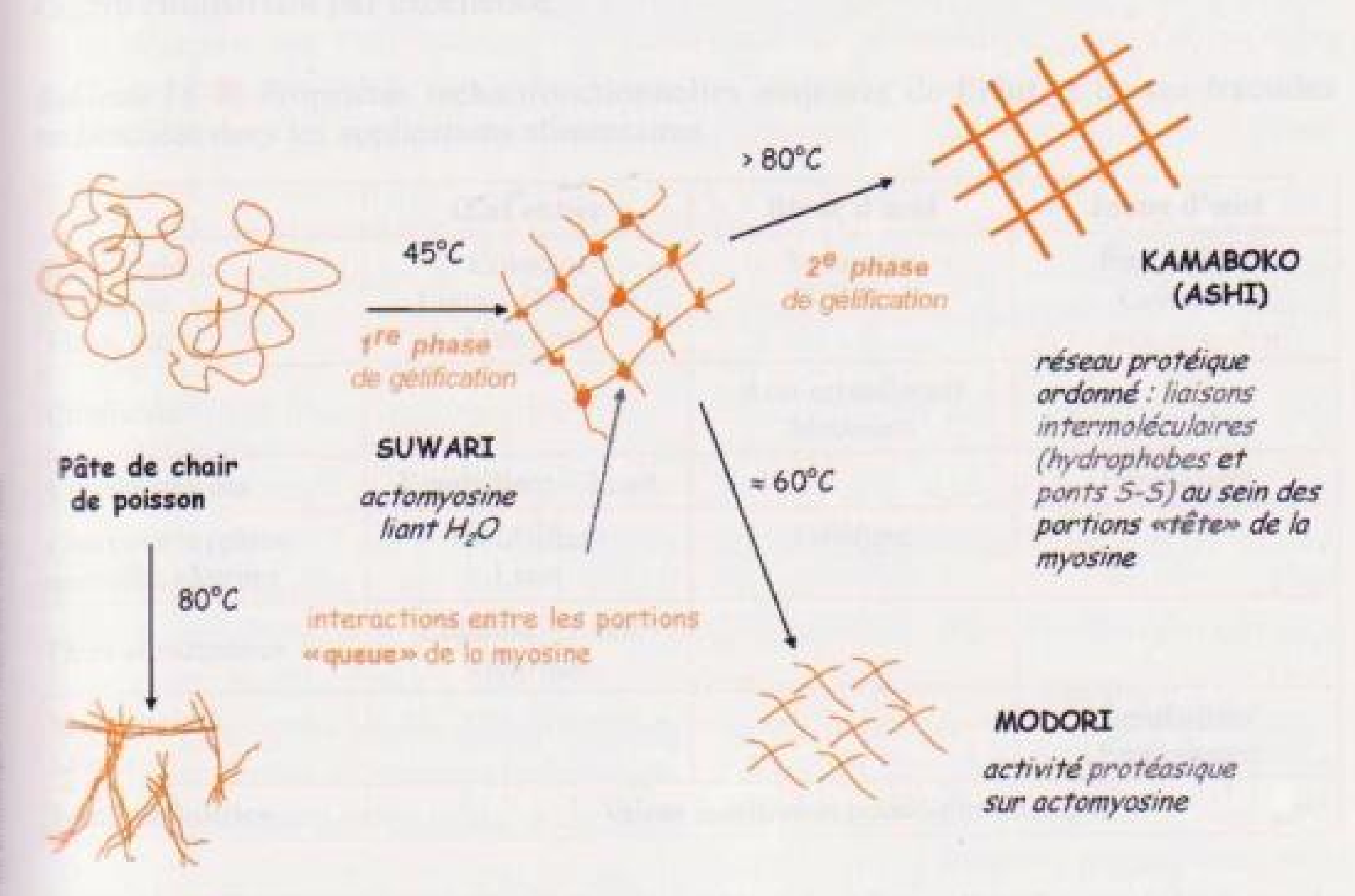


Figure 42 ■ Formation du gel de kamaboko.

La première phase de gélification est réalisée vers 45 °C, c'est la phase de *suwari* : les interactions entre les portions « queue » de myosine favorisent la formation d'un réseau tridimensionnel, dans lequel les molécules d'eau sont retenues. La seconde phase, appelée *ashi*, conduit au Kamaboko. Elle consiste à renforcer le réseau protéique ainsi formé, en favorisant par chauffage à température élevée (> 80 °C) les liaisons intermoléculaires de type hydrophobe, et en formant des ponts disulfures au sein de la portion « tête » de la myosine. Le gel ainsi obtenu est ferme et élastique.

Le chauffage à 80 °C en une seule étape de la pâte de poisson ne permet pas la formation d'un réseau gélifié satisfaisant, car celui-ci est figé et n'a pas le temps de s'organiser selon les deux phases précédemment décrites. Par ailleurs, une gélification réalisée à 60 °C conduit à un réseau plus fragile, et donc à un gel moins ferme. Ceci est principalement dû à la réaction des protéases du muscle sur le complexe actomyosine. L'addition à la pâte de surimi de blanc d'œuf, riche en activité antiprotéasique, limite ce défaut de gélification.

Le gel kamaboko est une base protéique très facile à colorer et à aromatiser, c'est pourquoi il permet la fabrication de produits aux formes, aux couleurs, aux goûts très divers. Les Japonais fabriquent une gamme de produits beaucoup plus large que celle proposée par les Européens.

3

De l'œuf aux ovoproduits

L'œuf de poule est qualifié d'ingrédient polyfonctionnel car, outre sa valeur nutritionnelle, il peut remplir simultanément plusieurs fonctions technologiques dans un même produit alimentaire formulé. Ses propriétés émulsifiantes, foisonnantes, gélifiantes, épaississantes, colorantes et aromatiques en font encore à l'heure actuelle un ingrédient de base universel de la cuisine domestique et de l'agroalimentaire (tableau 18). Pour certaines préparations, des propriétés plus spécifiques sont recherchées, ce qui peut amener à utiliser séparément le blanc et le jaune d'œuf : le blanc d'œuf est une référence en terme de foisonnement alors que le jaune d'œuf est l'agent émulsifiant par excellence.

Tableau 18 ■ Propriétés technofonctionnelles majeures de l'œuf et de ses fractions recherchées dans les applications alimentaires.

	Œuf entier	**Blanc d'œuf**	**Jaune d'œuf**
Biscuiterie Pâtisserie Flans, etc.	Colorant Liant – Gélifiant Moussant	Moussant Gélifiant	Émulsifiant Colorant
Confiserie		Anti-cristallisant Moussant	
Crèmes glacées	Émulsifiant – Liant		Émulsifiant
Charcuterie (pâtés, quenelles) Surimi	Émulsifiant Liant	Gélifiant	
Pâtes alimentaires	Colorant – Liant Gélifiant		
Mayonnaises Sauces			Émulsifiant Épaississant
Toutes industries	Valeur nutritive et pouvoir aromatique		

Les propriétés moussantes exceptionnelles du blanc d'œuf sont à la base de recettes traditionnelles parmi lesquelles les meringues font office de référence. En effet, l'extrême simplicité de leur formule (du blanc d'œuf et du sucre, éventuelle-

ment additionnés d'arômes) permet au blanc d'œuf d'exprimer de manière optimale ses propriétés moussantes. Mais il existe un grand nombre d'autres produits dans lesquels on incorpore du blanc d'œuf préalablement foisonné, qu'il s'agisse de formules exemptes de matière grasse (*angel food cake*) ou en contenant (biscuits à la cuiller, *sponge cake*, soufflés). Enfin, ses propriétés moussantes sont également mises à profit dans la préparation d'une variété de produits pour lesquels l'étape de foisonnement est réalisée après mélange de tous les ingrédients, y compris lipidiques, ou à partir de l'œuf entier (omelettes foisonnées, boudoirs, charcuterie foisonnée, mousses de légumes ou de poissons, etc.).

Au niveau industriel, le jaune d'œuf est incorporé dans de nombreux produits alimentaires pour ses propriétés émulsifiantes exceptionnelles, et aussi parce qu'il procure aux aliments le goût et la couleur désirés. Le jaune d'œuf est ainsi un ingrédient indispensable à la fabrication d'émulsions froides (mayonnaises, sauces salades) et chaudes (béarnaises, hollandaises). Il participe à la formation et à la stabilisation des émulsions, d'une part en diminuant la tension interfaciale entre l'huile et l'eau et d'autre part en formant une barrière protégeant les gouttelettes d'huile de la rupture.

Les propriétés gélifiantes de l'œuf, essentiellement sous forme d'entier ou de blanc, sont mises à profit dans de nombreuses applications alimentaires, tant en pâtisserie-biscuiterie, qu'en charcuterie ou dans le secteur des pâtes alimentaires. Pour toutes ces utilisations, la gélification est obtenue par chauffage (étape de cuisson).

À l'exception des propriétés colorantes et aromatisantes de l'œuf, liées respectivement aux pigments et aux composés aromatiques du jaune d'œuf, toutes les propriétés technofonctionnelles de l'œuf et de ses fractions sont des propriétés texturantes ou structurantes impliquant très majoritairement des protéines, ainsi que quelques molécules de nature lipidique (propriété émulsifiante des lipoprotéines).

De très nombreux travaux ont été et sont encore aujourd'hui consacrés à la compréhension des phénomènes physico-chimiques à la base des multiples propriétés technofonctionnelles de l'œuf, en regard du rôle de chacun des constituants majeurs. Une composition mal connue et une structure complexe, telle que celle du jaune d'œuf, expliquent notamment les difficultés rencontrées pour modéliser les phénomènes. De plus, les synergies entre constituants ne sont que très difficilement appréhendables. Par ailleurs, dans un grand nombre de formules et préparations alimentaires, la complexité et la juxtaposition des phénomènes en jeu compliquent encore un peu plus la compréhension des mécanismes : c'est le cas de certaines préparations charcutières dans lesquelles foisonnement, émulsification et gélification interviennent, simultanément ou successivement. Il n'en demeure pas moins que l'un des enjeux majeurs pour la maîtrise des propriétés technofonctionnelles de l'œuf passe par la compréhension des comportements de ses différents constituants, même s'il est aujourd'hui très clair que l'extrapolation depuis des systèmes modèles (solutions simples de protéines notamment) vers les systèmes alimentaires « vrais » n'est pas toujours possible.

1. L'œuf de poule, matière première de l'industrie des ovoproduits

1.1. Structure et composition

Du fait d'une sélection intensive depuis de nombreuses années et de l'homogénéité génétique des souches de pondeuses actuellement utilisées, le poids moyen d'un œuf de poule varie peu, compris entre 55 et 65 g. L'œuf est constitué de trois parties principales que sont la coquille (environ 10 % du poids de l'œuf), le blanc (60 %) et le jaune (30 %) (figure 43).

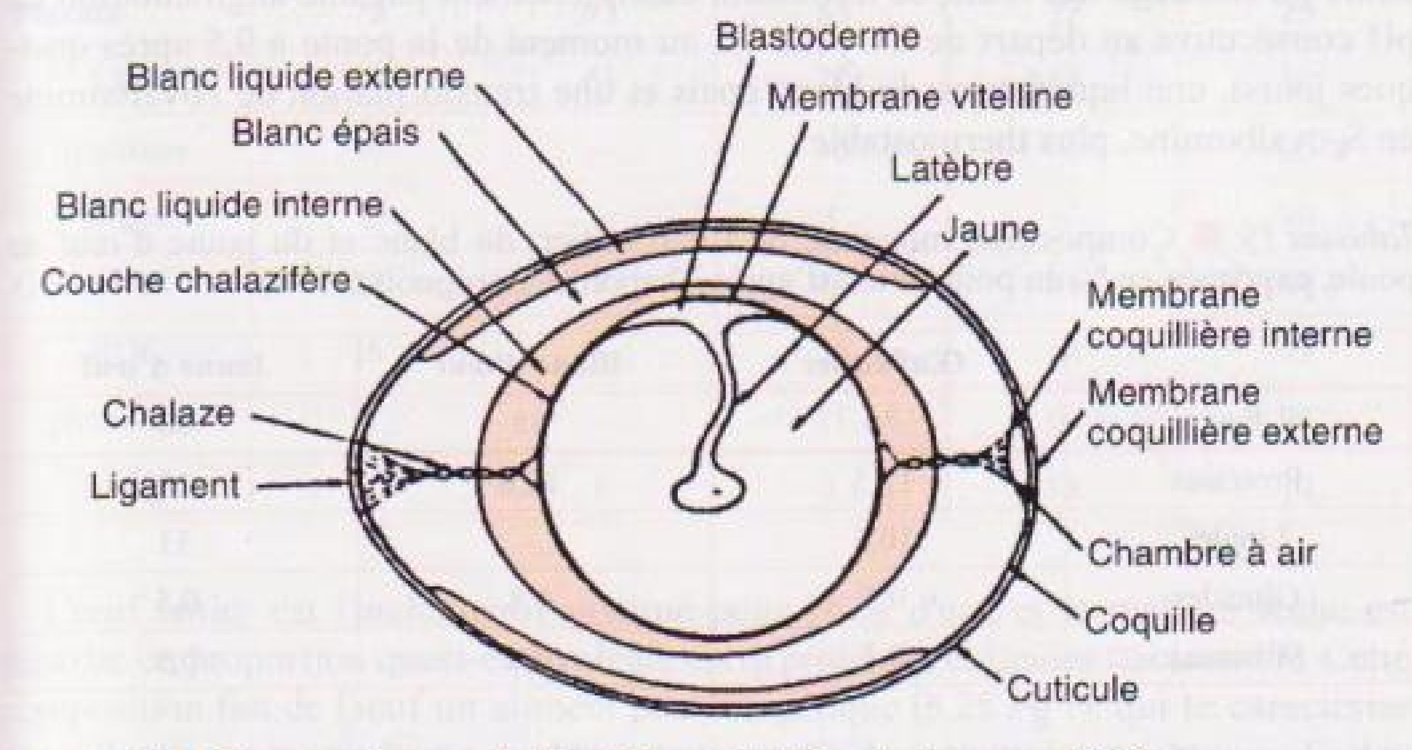


Figure 43 ■ Structure interne de l'œuf de poule (d'après Sauveur, 1988).

La coquille et les membranes coquillières qui lui sont associées, bien que non comestibles, constituent un élément essentiel pour la qualité du contenu de l'œuf, en raison de leur rôle de barrière physique vis-à-vis des contaminations microbiennes. La coquille en elle-même est essentiellement de nature minérale (95 % (p/p) de minéraux, dont 93,5 % de carbonate de calcium), tandis que la cuticule qui la recouvre est de nature organique, de même que les deux membranes coquillières qui la séparent du blanc d'œuf et qui sont de nature protéique. Ces dernières, constituées par la superposition de couches de fibres protéiques entrecroisées, sont une barrière très efficace à l'égard des bactéries et des moisissures qui peuvent éventuellement traverser les pores de la coquille lorsque la cuticule n'est plus intègre.

Le blanc d'œuf est avant tout une solution aqueuse de protéines, de glucides et de sels minéraux (tableau 19). Malgré cette composition globale relativement simple, il s'agit d'un milieu hétérogène qui se répartit en quatre couches bien distinctes dans l'œuf fraîchement pondu (figure 43) :

– la *couche chalazifère*, très ferme, qui entoure la membrane vitelline et se prolonge vers les deux extrémités de l'œuf par les chalazes. Elle représente 3 % (p/p) du blanc total ;

- le *blanc liquide externe* (23 % du blanc) au contact des membranes coquillières ;
- le *blanc épais* (57 % du blanc) fixé aux deux extrémités de l'œuf et présentant une structure gélifiée ;
- le *blanc liquide interne* (17 % du blanc) entourant le jaune.

Ces différentes fractions n'ont pas la même teneur en eau (de 84 à 89 % des couches internes vers les couches externes de l'œuf), ni exactement les mêmes concentrations en protéines. Le blanc épais serait ainsi quatre fois plus concentré en ovomucine que le blanc liquide, lui conférant une structure gélifiée et une viscosité très supérieure. Par ailleurs, des modifications physico-chimiques se produisent au cours du stockage des œufs, se traduisant essentiellement par une augmentation du pH consécutive au départ de CO_2 (de 7,5 au moment de la ponte à 9,5 après quelques jours), une liquéfaction du blanc épais et une transformation de l'ovalbumine en S-ovalbumine, plus thermostable.

Tableau 19 ■ Composition moyenne de l'œuf entier, du blanc et du jaune d'œuf de poule, exprimée en % du poids total (d'après Thapon et Bourgeois, 1994).

	Œuf entier	**Blanc d'œuf**	**Jaune d'œuf**
Eau	76	88	50
Protéines	12,5	10,6	16
Lipides	10,5	–	33
Glucides	0,5	0,8	0,5
Minéraux	0,5	0,6	0,5

Le jaune d'œuf, ou vitellus, possède un extrait sec proche de 50 % (tableau 19) constitué principalement de lipides (environ 65 % de la matière sèche) et de protéines (33 %). Il contient également une quantité importante de minéraux dont le calcium, le fer et le phosphore. Le jaune d'œuf se présente comme une dispersion de particules (profiles et granules) en équilibre dans une solution aqueuse de protéines. Les profiles sont des structures assemblées de 12 nm à 48 nm de diamètre ; ce sont des lipoprotéines de faible densité ou LDL. Les granules ont la forme de sphères plus ou moins aplaties d'un diamètre de 0,3 µm à 2 µm.

Par dilution dans du NaCl (0,17 M) et centrifugation (10 000 g), le jaune d'œuf peut être séparé en deux fractions :

- le *plasma* (surnageant orangé) représente 75 à 80 % de la matière sèche du jaune et comprend les LDL (85 %) et des protéines solubles, les livétines (15 %). Il renferme environ 55 % des protéines et 85 % des phospholipides du jaune ;
- les *granules* (culot blanchâtre) constituent 20 à 25 % de la matière sèche du jaune et renferment les lipoprotéines de haute densité ou HDL (70 %), la phosvitine (16 %), et des LDL résiduelles notées LDL_g (12 %) (tableau 20). Les granules représentent environ 47 % des protéines et 15 % des phospholipides du jaune. Les HDL et la phosvitine, formant le maillon de base des granules, contiennent une forte proportion de sérines phosphorylées qui permettent leur association par l'intermédiaire des ions calcium divalents. Les nombreux ponts

phosphocalciques rendent la structure compacte, peu hydratée, peu accessible aux enzymes et protègent les protéines contre la dénaturation et la gélification thermique.

Tableau 20 ■ Répartition des constituants du jaune d'œuf de poule (Powrie et Nakai, 1986).

	% MS du jaune	% lipides du jaune	% protéines du jaune	Composition (%)	
				Lipides	Protéines
Jaune	**100**	**100**	**100**	**64**	**32**
Plasma	**78**	**93**	**53**	**73**	**25**
LDL	66	61	22	88	10
livétines	10	–	30	–	96
autres	2	–	1	–	90
Granules	**22**	**7**	**47**	**31**	**64**
HDL	16	6	35	24	75
phosvitine	4	–	11	–	95
LDLg	2	1	1	88	10

L'œuf entier est finalement constitué pour 76 % d'eau et la matière sèche est répartie en proportion quasi-équivalente entre protéines et lipides (tableau 19). Cette composition fait de l'œuf un aliment peu énergétique (6,25 $J{\cdot}g^{-1}$), qui se caractérise par ailleurs par la très haute qualité nutritionnelle de ses protéines (absence d'acide aminé limitant pour l'homme adulte) et de ses lipides (très bonne digestibilité avec une richesse naturelle en acides gras insaturés), ainsi que par sa richesse en phosphore, fer et en de nombreuses vitamines. Cet aliment universellement consommé est cependant pauvre en calcium, totalement dépourvu de vitamine C et de fibres, et constitue un allergène alimentaire majeur, surtout chez les jeunes enfants.

1.2. Caractéristiques biochimiques et physico-chimiques des fractions protéiques et lipidiques de l'œuf

1.2.1. Protéines du blanc d'œuf

Les protéines constituent l'essentiel de la matière sèche du blanc d'œuf avec un rapport « matière azotée/extrait sec » supérieur à 90 %. Le nombre total des protéines du blanc d'œuf n'est pas connu précisément. Jusqu'à très récemment en effet, seules les protéines majeures étaient identifiées. Le développement récent de techniques séparatives et analytiques puissantes a toutefois permis de mettre en évidence de nombreuses protéines mineures, dont certaines ont d'ores et déjà été identifiées. Les caractéristiques principales des protéines actuellement connues sont indiquées dans le tableau 21.

Tableau 21 ■ Composition protéique du blanc d'œuf. En italique sont indiquées les protéines mineures récemment identifiées (d'après Li-Chan et Nakai, 1989 ; Stevens, 1991 ; Guérin *et al.*, 2006).

Protéine	%	M (kDa)	pH_i	Caractéristiques biologiques importantes
Ovalbumine	54	45	5	Phosphoprotéine immunogène
Ovalbumine Y	5	44	5,2	nd (non déterminé)
Ovalbumine X	0,5	56	6,5	nd
Ovotransferrine	13	76	6,7	Fixe le fer, activité bactériostatique
Ovomucoïde	11	28	4,8	Inhibiteur trypsique
Ovomucine	1,5-3,5	230 à 8 300	4,5-5	Très glycosylée, inhibe l'hémaglutination virale
Lysozyme	3,5	14,4	10,7	Lyse les parois des bactéries Gram+
Ovo-inhibiteur	0,1-1,5	49	5,1	Inhibiteur des sérine protéases
Ovoglycoprotéine	0,5-1	24,4	3,9	nd
Flavoprotéine	0,8	32	4	Fixe la riboflavine (vitamine B_2)
Ovostatine	0,5	760 à 900	4,6	Inhibiteur des sérine protéases, très allergénique
Cystatine	0,05	12,7	5,1	Inhibiteur des cystéine protéases
Avidine	0,05	68,3	10	Fixe la biotine
Ex-FABP	nd	18	5,5	Famille des lipocalines
Cal gamma	nd	20,8	6	Famille des lipocalines
TENP	nd	47,4	5,6	Famille des BPI (*bactericidal permeability-increasing protein*)
Hep 21	nd	18	6,4	Famille uPar/Ly6/*Snake neurotoxin*

Les protéines du blanc d'œuf sont majoritairement des protéines globulaires ayant, à l'exception du lysozyme et de l'avidine, un point isoélectrique acide. Ce sont toutes des glycoprotéines, excepté la forme majoritaire du lysozyme ainsi que la cystatine ; elles sont également riches en acides aminés soufrés. Nombre de ces protéines possèdent des propriétés biologiques, contribuant au rôle protecteur du blanc d'œuf au cours du développement de l'embryon, vis-à-vis des micro-organismes pathogènes notamment. Certaines d'entre elles sont très thermosensibles et/ou particulièrement sensibles à la dénaturation de surface, contribuant ainsi aux propriétés technofonctionnelles remarquables du blanc d'œuf.

L'ovalbumine, protéine majeure du blanc d'œuf, représente à elle seule plus de la moitié des protéines totales. C'est une protéine globulaire, phosphorylée (majoritairement 2 phosphates par molécule), de masse molaire d'environ 45 kDa, appartenant à la famille des serpines bien que dépourvue d'activité inhibitrice de protéases. Parmi les 385 résidus acides aminés constitutifs de la protéine, la moitié est hydrophobe et un tiers est chargé, en majorité négativement au pH physiologique. L'ovalbumine possède également 6 résidus Cys enfouis au cœur de la protéine dont 2 sont impliqués dans un pont disulfure (Cys^{73}-Cys^{120}). Ainsi, c'est la seule protéine du

blanc d'œuf qui possède des groupements thiols libres pouvant donner lieu à des réarrangements selon les conditions de conservation, de pH et de dénaturation de surface. Lors de la conservation des œufs ou de traitements thermiques modérés en milieu alcalin, l'ovalbumine acquiert une conformation plus thermostable appelée S-ovalbumine par isomérisation d'acides aminés spécifiques (Ser^{164}, Ser^{236} et Ser^{320} qui adopte une configuration D).

L'ovotransferrine, également appelée conalbumine, appartient à la famille des transferrines. C'est une chaîne polypeptidique de 686 résidus d'acides aminés, soit environ 77,7 kDa organisée en deux lobes possédant chacun un site de fixation spécifique du fer (ou Cu^{2+}, Zn^{2+}, Al^{3+}). L'ovotransferrine est la protéine la plus thermosensible du blanc d'œuf : sa température de dénaturation à pH 7 est de l'ordre de 63 °C, lui conférant un rôle limitant lors de la mise en œuvre de traitements thermiques. La fixation de fer (ou d'aluminium) au niveau des sites actifs engendre un changement de conformation de la protéine et une augmentation de sa stabilité thermique.

L'ovomucoïde est une protéine acide (pH_i de 4,1) d'environ 28 kDa pouvant contenir jusqu'à 25 % de carbohydrates (p/p). C'est la protéine la plus allergénique du blanc d'œuf. À pH 7, sa température de dénaturation est d'environ 77 °C. En revanche, elle est très thermorésistante à pH acide ; elle conserve son activité antitrypsique après des traitements thermiques de plusieurs minutes à 100 °C.

L'ovomucine est également une protéine hautement glycosylée de masse moléculaire élevée (environ 10^4 kDa). Elle s'insolubilise par dilution du blanc d'œuf (réduction de la force ionique), et après précipitation, sa résolubilisation est extrêmement difficile. L'ovomucine peut s'associer, *via* des liaisons de nature électrostatique, avec d'autres protéines du blanc d'œuf (ovalbumine, ovotransferrine et surtout lysozyme). Au pH du blanc d'œuf (compris entre 7,5 et 9,5), les groupements carboxyliques des acides sialiques de l'ovomucine peuvent en effet interagir avec les groupements ε-NH^{3+} des résidus lysyls du lysozyme, formant un complexe lysozyme-ovomucine, insoluble dans l'eau, et qui serait responsable de la structure gélifiée du blanc d'œuf, en particulier du blanc épais.

Le lysozyme est une enzyme responsable de la lyse des parois des bactéries à coloration $Gram^+$ par hydrolyse des liaisons β-1-4 entre l'acide N-acétylmuraminique et le N-acétylglucosamine des mucopolysaccharides de la paroi bactérienne. Il s'agit d'une protéine globulaire constituée de 129 résidus acides aminés, dont environ 40 % sont hydrophobes et un tiers sont chargés ; la majorité des résidus chargés sont basiques, ce qui confère à la protéine son pH_i particulièrement élevé (10,7) Le lysozyme possède une structure rigide stabilisée notamment par quatre ponts disulfures (Cys^6-Cys^{127}, Cys^{30}-Cys^{115}, Cys^{64}-Cys^{80}, Cys^{76}-Cys^{94}).

1.2.2. *Constituants protéiques du jaune d'œuf*

Les lipoprotéines de faible densité (LDL) sont les constituants majeurs du jaune d'œuf : elles représentent deux tiers de sa matière sèche et 22 % de ses protéines. Elles contiennent 83-89 % de lipides et 11-17 % de protéines. Les lipides se répartissent en 74 % de lipides neutres (triglycérides et cholestérol) et 26 % de phospholipides. Deux types de LDL ont été mis en évidence : les LDL_1 (20 % des LDL)

dont le poids moléculaire est $10,3 \cdot 10^3$ kDa et les LDL_2 (80 % des LDL) dont le poids moléculaire est de $3,3 \cdot 10^3$ kDa.

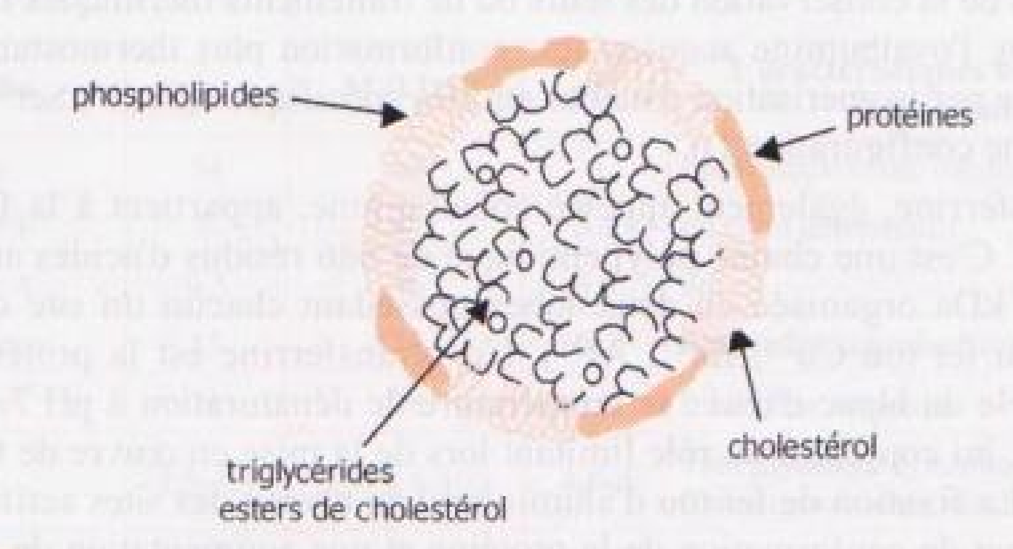


Figure 44 Représentation schématique des LDL du jaune d'œuf.

Les LDL ont une structure classique de lipoprotéines (figure 44) avec un noyau de lipides neutres (triglycérides et esters de cholestérol) entouré par une monocouche de phospholipides et de protéines en contact avec la phase aqueuse. Elles ont une forme sphérique, leur diamètre variant de 17 à 60 nm. Les LDL du jaune d'œuf sont issues de lipoprotéines synthétisées dans le foie de la poule, les VLDL (lipoprotéines de très faible densité). Les VLDL sont transportées par le flux sanguin jusqu'à l'oocyte. Des récepteurs spécifiques dans la membrane de l'oocyte permettent la fixation des VLDL qui sont ensuite secrétées dans le jaune d'œuf par endocytose puis modifiées en LDL.

Les protéines des LDL sont particulièrement difficiles à étudier du fait de leur faible solubilité due à leur forte proportion en acides aminés hydrophobes (40 %), ce qui situe les LDL parmi les protéines les plus hydrophobes qui soient répertoriées. Elles sont glycosylées et présentent un pH_i entre 6,5 et 7,3.

Les livétines désignent les protéines globulaires non liées à des lipides qui sont présentes dans le plasma. Ces protéines représentent 11 % de la matière sèche du jaune et 30 % des protéines. Ce sont des protéines sanguines déposées dans le jaune d'œuf dont le pH_i est compris entre 4,3 et 5,5.

Les lipoprotéines de haute densité (HDL) représentent environ un sixième de la matière sèche du jaune d'œuf et 36 % de ses protéines. Elles sont constituées de deux sous-unités α et β dont la composition en acides aminés est très proche mais qui se différencient par leur degré de phosphorylation et leur teneur en acide sialique. Ce sont chacune des dimères dont le poids moléculaire est de 400 kDa. Elles contiennent 80 % de protéines et 20 % de lipides qui se répartissent en 65 % de phospholipides et 35 % de lipides neutres.

La phosvitine représente 10 % des protéines du jaune. Sa masse moléculaire se situe entre 36 et 40 kDa et son pH_i est de 4,0. Elle est glycosylée et contient environ 10 % de phosphore (60 % du phosphore protéique du jaune). Plus de la moitié (54 %) des acides aminés de la phosvitine sont des sérines, exclusivement présentes sous forme d'esters d'acide phosphorique lui conférant des propriétés de fixation des cations : principalement le fer et le calcium. Par ailleurs, la séquence polypepti-

dique de la phosvitine ne renferme que peu ou pas de cystéine, cystine, méthionine, tryptophane et tyrosine et seulement 10 % d'acides aminés hydrophobes. La phosvitine est donc particulièrement hydrophile en comparaison de la plupart des protéines et porte une charge nette fortement négative.

1.2.3. Lipides du jaune d'œuf

Composants principaux du jaune (60 %), les lipides sont distribués exclusivement dans les lipoprotéines (LDL et HDL). Ils sont composés de triglycérides (65 %), phospholipides (29 %), cholestérol (5 %), acides gras libres (< 1 %), et d'autres lipides incluant les caroténoïdes (< 0,1 %) qui donnent leur couleur au jaune. Les phospholipides du jaune sont très riches en phosphatidylcholine (76 % des phospholipides) et en phosphatidyléthanolamine (22 %).

La composition en acides gras des lipides, basée sur une alimentation standardisée des poules, est d'environ 30-35 % d'acides gras saturés, 40-45 % d'acides gras mono-insaturés et 20-25 % d'acides gras polyinsaturés. Les acides gras principaux sont l'acide oléique (C18:1 à 40-45 %), l'acide palmitique (C16:0 à 20-25 %) et l'acide linoléique (C18:2 à 15-20 %). Toutefois, cette composition est sujette à de fortes variations, en particulier en fonction de la nature des acides gras ingérés par la poule.

2. *Propriétés physico-chimiques des diverses fractions de l'œuf*

2.1. Propriétés interfaciales

2.1.1. Propriétés moussantes du blanc d'œuf

Le blanc d'œuf est l'agent moussant par excellence : comparé à d'autres ingrédients protéiques d'origine végétale ou animale, il offre toujours les meilleures propriétés foisonnantes. Ses propriétés sont dues d'une part aux très bonnes propriétés interfaciales des protéines qui le constituent, et d'autre part à son aptitude à figer cette structure foisonnée, notamment après traitement thermique. L'aptitude au foisonnement de protéines globulaires telles que les protéines de blanc d'œuf dépend en effet du bon déroulement de trois phases intervenant à la surface ou à proximité des bulles de gaz :

- la diffusion des protéines vers l'interface air-eau ;
- les changements de conformation et le compactage des protéines adsorbées à l'interface ;
- le réarrangement irréversible du film protéique.

C'est pourquoi la capacité du blanc d'œuf à former une mousse dépend de facteurs intrinsèques, incluant la structure et la conformation des protéines, eux-mêmes dépendants de facteurs environnementaux tels que le pH, la force ionique, les interactions protéine-protéine et protéine-eau.

Globalement, le blanc d'œuf peut être assimilé à une solution d'agents tensio-actifs efficaces. Ses protéines sont amphiphiles, et présentent une hydrophobie de surface relativement importante, diffusant donc rapidement vers l'interface air-eau ou elles s'adsorbent efficacement. Leur flexibilité moléculaire permet des réarrangements conformationnels (expansion) à l'interface à l'origine d'une diminution importante de la tension de surface. Leur aptitude à former un réseau continu intermoléculaire, notamment lorsqu'un certain niveau de dénaturation a été préalablement atteint, leur permet de constituer un film interfacial viscoélastique assurant la stabilité de la mousse. Cependant, les protéines du blanc d'œuf ne présentent pas toutes au même niveau ces différentes caractéristiques, et ne participent donc pas toutes de la même façon à l'expression des propriétés moussantes. De nombreux travaux ont tenté d'attribuer aux différentes fractions protéiques telle ou telle propriété. On a ainsi longtemps attribué aux globulines le pouvoir moussant, à l'ovomucine la stabilité de la mousse à température ambiante et à l'ovalbumine la structuration de la mousse après cuisson. Mais il est aujourd'hui bien établi que la complexité et la synergie des phénomènes ne permettent pas de dissocier ainsi les rôles des différentes protéines du blanc d'œuf. Ainsi, l'ovalbumine, le lysozyme et l'ovotransferrine présentent des comportements à l'interface air-eau différents selon qu'elles sont seules, en solution, ou en mélange (Lechevalier *et al.*, 2003).

Bien que nous ne soyons pas à même aujourd'hui de modéliser le comportement interfacial des protéines en fonction de leurs caractéristiques physico-chimiques, il semble cependant que des paramètres tels que l'hydrophobie de surface (qui conditionne l'efficacité de l'adsorption à l'interface), le nombre de ponts disulfures (qui conditionne la rigidité/flexibilité de la protéine) et le nombre de groupements thiol libres (qui conditionne la « réactivité ») sont déterminants vis-à-vis des modifications structurales se déroulant à l'interface air-eau. Mais à la difficulté d'établir des règles physico-chimiques reliant la structure de chacune des protéines à ses propriétés interfaciales, vient s'ajouter la difficulté d'extrapolation au mélange protéique complexe que constitue le blanc d'œuf. Des phénomènes de compétition pour l'interface et d'éventuels échanges entre protéines à l'interface peuvent en effet intervenir au cours du temps. Dans un mélange constitué d'ovalbumine, de globulines, d'ovotransferrine, de lysozyme et d'ovomucoïde dans les proportions du blanc d'œuf, Damodaran *et al.* (1998) ont ainsi mis en évidence que seules l'ovalbumine et les globulines s'adsorbent à l'interface. L'exclusion de l'ovotransferrine, du lysozyme et de l'ovomucoïde serait liée à leurs vitesses de diffusion plus faibles : arrivant à l'interface après les deux autres protéines, elles ne parviendraient pas à les déplacer. Mais dans un mélange plus simple constitué d'ovalbumine, d'ovotransferrine et de lysozyme dans les proportions du blanc d'œuf, Lechevalier *et al.* (2005) ont pu démontrer la participation des trois protéines à la formation du film interfacial, au sein duquel des interactions électrostatiques et des liaisons covalentes ont été observées. Par ailleurs, l'analyse des modifications de structure subies par chacune de ces trois protéines après contact avec l'interface air-eau a mis en évidence un phénomène de « synergie de dénaturation » : qu'il s'agisse de l'ovalbumine, de l'ovotransferrine ou du lysozyme, les modifications structurales consécutives au contact avec l'interface sont supérieures ou égales lorsque ces protéines sont en mélange, par rapport aux modifications observées lorsque chacune des protéines

est seule en solution. Quoi qu'il en soit, il ressort d'un certain nombre d'études que les propriétés moussantes des protéines du blanc d'œuf isolées sont toujours très inférieures à celles du blanc d'œuf, ce qui tend à confirmer l'existence et le rôle des interactions entre ses protéines. Il est notamment couramment admis que la coexistence naturelle dans le blanc d'œuf de protéines basiques (lysozyme) et de protéines acides (ovalbumine) serait à l'origine d'interactions électrostatiques, expliquant pour partie la bonne stabilité des mousses de blanc d'œuf.

2.1.2. *Propriétés émulsifiantes du jaune d'œuf*

Les émulsions alimentaires à base de jaune d'œuf sont des émulsions huile dans eau, c'est-à-dire constituées de gouttelettes d'huile dispersées dans une phase aqueuse, telles que la mayonnaise, les sauces béarnaise ou hollandaise, la crème anglaise, etc. Une émulsion est un système thermodynamiquement instable en raison de la tension interfaciale importante qui se crée à l'interface entre les deux liquides non miscibles : plus la tension interfaciale est importante, plus l'émulsion aura tendance à se déstabiliser rapidement. Les principales formes de déstabilisation sont : le crémage, la floculation et la coalescence (cf. chapitre 11, § 1.2., premier volume). Tous les états d'agrégation des gouttelettes tels que la floculation et le crémage ainsi que l'utilisation de fractions volumiques d'huile importantes favorisent la coalescence.

Malgré tout, il est possible de former des émulsions stables en apparence, en ralentissant l'agrégation ou la migration des gouttelettes par ajout d'émulsifiants et/ou d'épaississants avant l'homogénéisation (cf. chapitre 11, § 3., premier volume). Pour comprendre quel est le principal contributeur des propriétés émulsifiantes du jaune d'œuf, de nombreux auteurs ont séparé le jaune en ses fractions principales : le plasma et les granules. En comparant la stabilité et la granulométrie des émulsions de jaune, de plasma et de granules, Dyer-Hurdon et Nnanna (1993), Anton et Gandemer (1997) ont mis en évidence des similitudes entre les émulsions de jaune et de plasma, alors que les émulsions de granules présentaient des propriétés nettement différentes (figure 45) dépendant de leur solubilité (Anton *et al.*, 2000) ; dans des conditions d'émulsification où l'apport d'énergie peut permettre de former des gouttelettes d'huile de moins d'un micron, la taille de gouttelettes dans les émulsions préparées à partir de granules insolubles est plus élevée en raison d'une coalescence plus importante. En revanche, lorsque les granules sont solubles (pH 7,0 et force ionique 0,55 M), la coalescence est évitée. Dans ces conditions, les gouttelettes d'huile ont une taille comparable à celles obtenues avec le jaune d'œuf. Toutefois, à concentration en protéine égale, les granules restent moins efficaces que le plasma. Ceci laisse à penser que les molécules responsables des propriétés émulsifiantes du jaune d'œuf se situent dans le plasma.

De nombreux auteurs ont démontré que les LDL du plasma sont de meilleurs agents émulsifiants que la sérum albumine bovine (SAB) (Mizutani et Nakamura, 1985) et que la caséine β (Shenton, 1979). Ces auteurs et d'autres (Aluko *et al.*, 1998 ; Mine et Keeratiurai, 2000) ont montré que les LDL déplacent rapidement les caséines de l'interface, ce qui démontre leurs excellentes propriétés de surface. Les protéines solubles du jaune n'ont pas le pouvoir pénétrant des lipoprotéines à l'interface huile-eau, surtout aux pressions de surface élevées. Mais, à matière sèche équivalente, elles forment des émulsions plus fines et plus stables vis-à-vis du crémage.

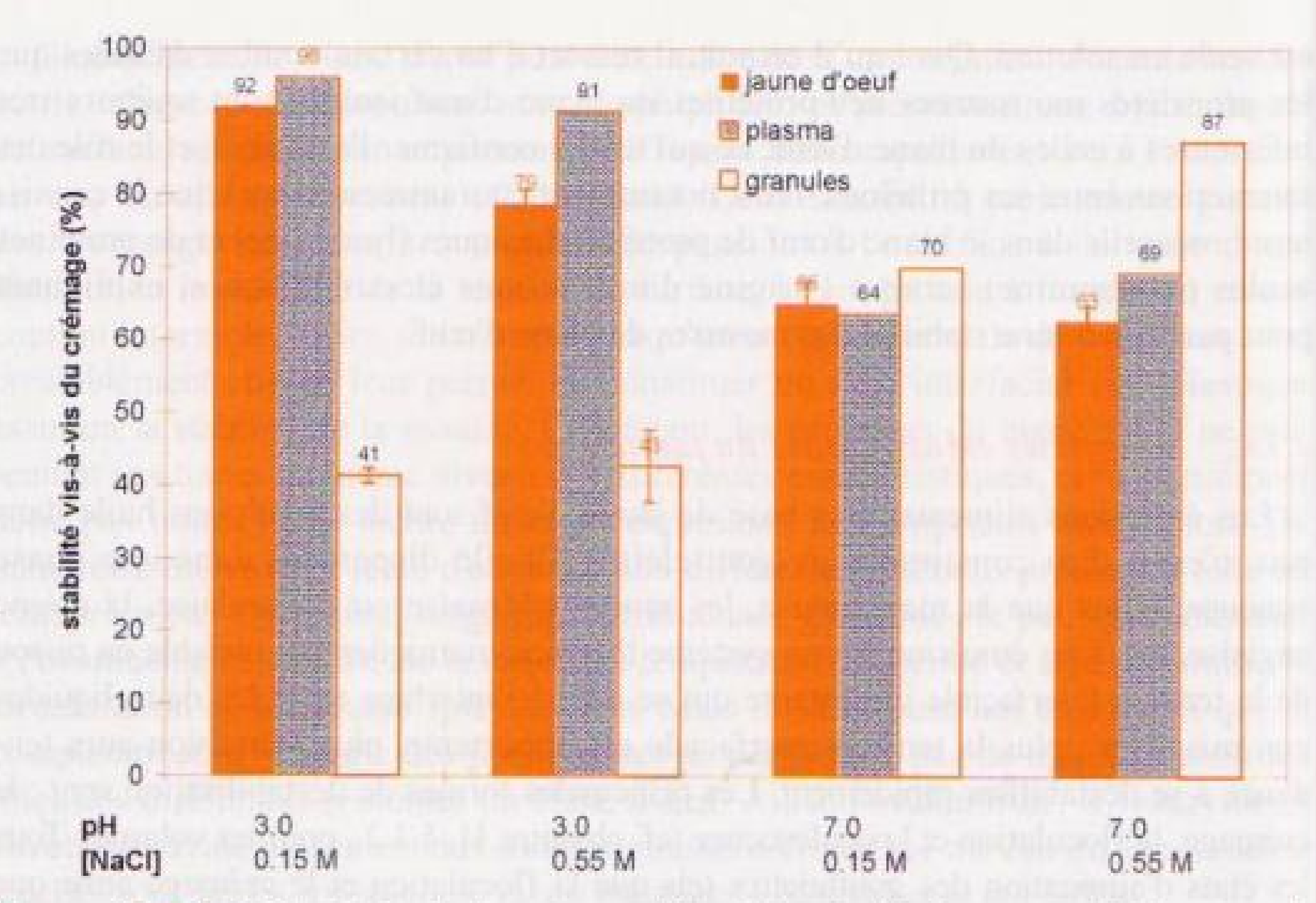


Figure 45 ■ Stabilité vis-à-vis du crémage d'émulsions huile-dans-eau réalisées à partir de jaune, de plasma et de granules, émulsions H/O 30/70, concentration en protéines dans la phase aqueuse : 25 mg·mL^{-1}.

À l'inverse, les livétines ne parviennent pas à s'adsorber lorsqu'elles sont émulsifiées en mélange avec des caséines ou avec les LDL du jaune d'œuf. Ces résultats démontrent le rôle primordial des LDL parmi les constituants du plasma et par conséquent dans le jaune d'œuf.

Une étude récente (Martinet *et al.*, 2002) a comparé les propriétés émulsifiantes des LDL et des HDL du jaune d'œuf. Il apparaît que les LDL font des émulsions avec des tailles de gouttelettes d'huile plus petites que celles obtenues avec les HDL, quelles que soient les conditions de pH et de force ionique. La synthèse de tous ces résultats indique que, aussi bien en comparaison qu'en compétition, les LDL jouent un rôle majeur dans l'explication des propriétés émulsifiantes du jaune d'œuf.

Nous avons vu que les LDL ont une structure très particulière avec un noyau de lipides neutres entouré d'un film de phospholipides et de protéines. L'intégrité de la structure des LDL semble essentielle pour assurer leurs propriétés interfaciales, mais est-elle préservée lors du processus d'adsorption à l'interface entre l'huile et l'eau ? Il est habituellement supposé que les micelles de LDL se cassent au voisinage d'une interface par affaiblissement des interactions protéines-protéines. Les lipides du noyau coalesceraient avec la phase huile et les protéines et les phospholipides s'étaleraient à l'interface (Shenton, 1979 ; Kiosseoglou, 1989). L'adsorption directe des protéines et des phospholipides qui constituent le film externe des LDL n'est pas facile en raison de leur faible solubilité dans l'eau (hydrophobie élevée). Donc les interactions qui existent entre les protéines et les phospholipides, et qui contribuent à la formation de la structure des LDL sont essentielles pour transpor-

ter les surfactants sous forme soluble au voisinage d'une interface et ensuite de les relâcher à l'interface.

La comparaison sur balance de Langmuir de l'isotherme de compression des LDL, avec ceux obtenus avec leurs espèces moléculaires constitutives (protéines, lipides neutres et phospholipides) ont permis de mieux comprendre le mécanisme d'adsorption aux interfaces des LDL (Martinet *et al.*, 2003). Trois transitions de phase à 20, 41 et 54 $mN{\cdot}m^{-1}$ sont observables sur l'isotherme de compression des LDL (figure 46). La transition unique observée sur l'isotherme des lipides neutres correspond exactement à la transition visible sur l'isotherme des LDL à 20 $mN{\cdot}m^{-1}$. La première transition du film de LDL est donc attribuée aux lipides neutres qui sont donc bien présents dans la couche interfaciale formée par les LDL et qui subissent un réarrangement au sein du film à la pression de 20 $mN{\cdot}m^{-1}$. Les lipides neutres forment le cœur des lipoprotéines et leur présence dans le film de LDL implique obligatoirement la dissociation de ces dernières à l'interface air-eau. Les LDL doivent donc être dissociées au contact de l'interface pour permettre la libération et l'étalement des lipides neutres. Par ailleurs, la transition observée sur l'isotherme des phospholipides (54 $mN{\cdot}m^{-1}$) correspond exactement à la dernière transition visible sur l'isotherme des LDL. L'isotherme des lipides totaux présente aussi cette transition caractéristique à 54 $mN{\cdot}m^{-1}$, qui est par conséquent attribuée à la restructuration interfaciale des phospholipides. En revanche, étant donnée leur insolubilité, les protéines des LDL n'ont pu être étalées. La transition obtenue à 41 $mN{\cdot}m^{-1}$ n'a donc pas pu être assignée, même si la présence de protéines est largement suspectée.

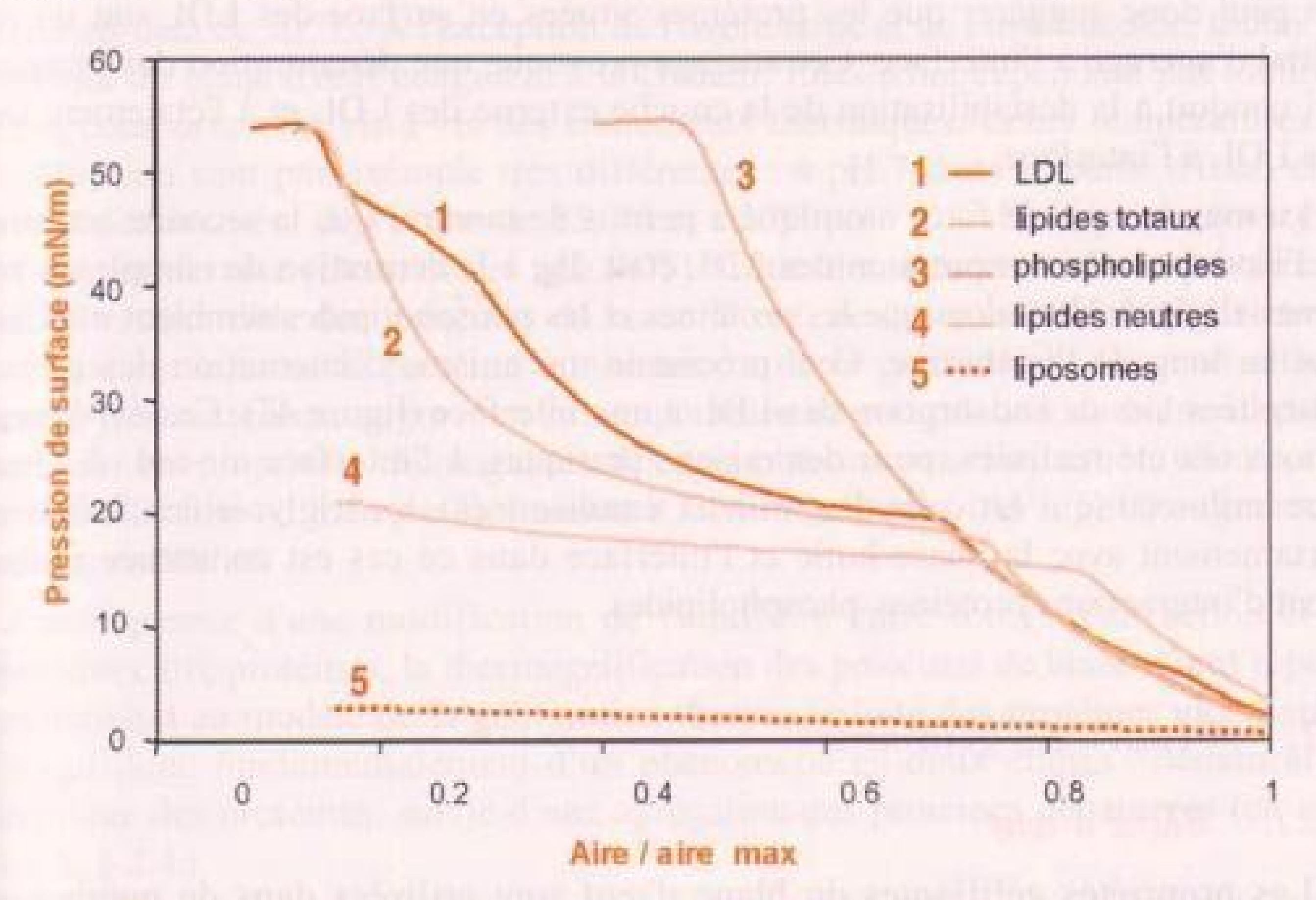


Figure 46 ■ Isotherme de compression à l'interface air-eau des LDL, de liposomes et des différents constituants lipidiques extraits des LDL.

Étant donné ces résultats, il semble donc évident que les LDL doivent se casser au contact de l'interface, s'étaler à la surface, permettant ainsi l'adsorption de leurs constituants. On peut donc considérer que les LDL servent de vecteur pour les

agents émulsifiants (protéines et phospholipides) qui ne pourraient pas être solubles dans l'eau et qui s'adsorbent une fois qu'ils sont libérés près de l'interface.

Mizutani et Nakamura (1985) ont démontré que l'hydrolyse croissante de LDL par des protéases (trypsine et papaïne) conduisait à une diminution des propriétés de formation et de stabilisation des émulsions. Il a donc été suggéré que seule une faible part des phospholipides des LDL participe à l'adsorption à l'interface huile-eau et que la part de protéines joue le rôle essentiel. Ces hypothèses ont été confirmées en mesurant la concentration interfaciale en protéines et en phospholipides dans les émulsions faites avec du jaune d'œuf, du plasma et des granules (Le Denmat *et al.*, 2000) ; la concentration interfaciale en protéines est corrélée avec la granulométrie et la stabilité des émulsions, alors que la concentration interfaciale en phospholipides n'est corrélée à aucun indicateur de stabilité des émulsions, suggérant le rôle majeur de la partie protéique. La comparaison des isothermes de phospholipides en solution ou sous forme de vésicules (liposomes) avec ceux des LDL a été réalisée pour comprendre les rôles respectifs des protéines et des phospholipides dans l'adsorption des LDL. Les phospholipides sous forme de liposomes ont montré une faible pression de surface tout au long de l'isotherme (figure 46). Ceci signifie que les liposomes n'ont pas la capacité à se déstructurer et de s'étaler à l'interface. À l'inverse, des protéines à la surface des liposomes permettent d'obtenir des isothermes ressemblant à ceux des LDL. Hormis l'existence d'un noyau de triglycérides au cœur des LDL, la principale différence entre les liposomes et les LDL est l'absence de protéine à la surface des liposomes (double couche de phospholipides). On peut donc suggérer que les protéines situées en surface des LDL ont un rôle initial d'ancrage à l'interface. Cet ancrage provoque une dénaturation des protéines qui conduit à la déstabilisation de la couche externe des LDL et à l'étalement total des LDL à l'interface.

La microscopie de force atomique a permis de montrer que la seconde transition de l'isotherme de compression des LDL était due à la démixtion de complexes protéines-triglycérides, alors que les protéines et les phospholipides semblent miscibles tout au long de l'isotherme. Ceci précise le mécanisme d'interaction des espèces relarguées lors de l'adsorption des LDL à une interface (figure 47). Ces expérimentations ont été réalisées, pour des raisons pratiques, à l'interface air-eau. À l'interface huile-eau (qui est celle des milieux émulsionnés), les triglycérides fusionnent certainement avec la phase huile et l'interface dans ce cas est constituée uniquement d'interactions protéines-phospholipides.

2.2. Propriétés gélifiantes

2.2.1. *Blanc d'œuf*

Les propriétés gélifiantes du blanc d'œuf sont utilisées dans de nombreuses applications alimentaires mettant en œuvre une étape de cuisson (charcuterie, terrines de poissons ou légumes, pâtisserie, etc.). Le phénomène physico-chimique exploité est en effet celui de la thermogélification des protéines : on parle de gels protéiques thermotropiques.

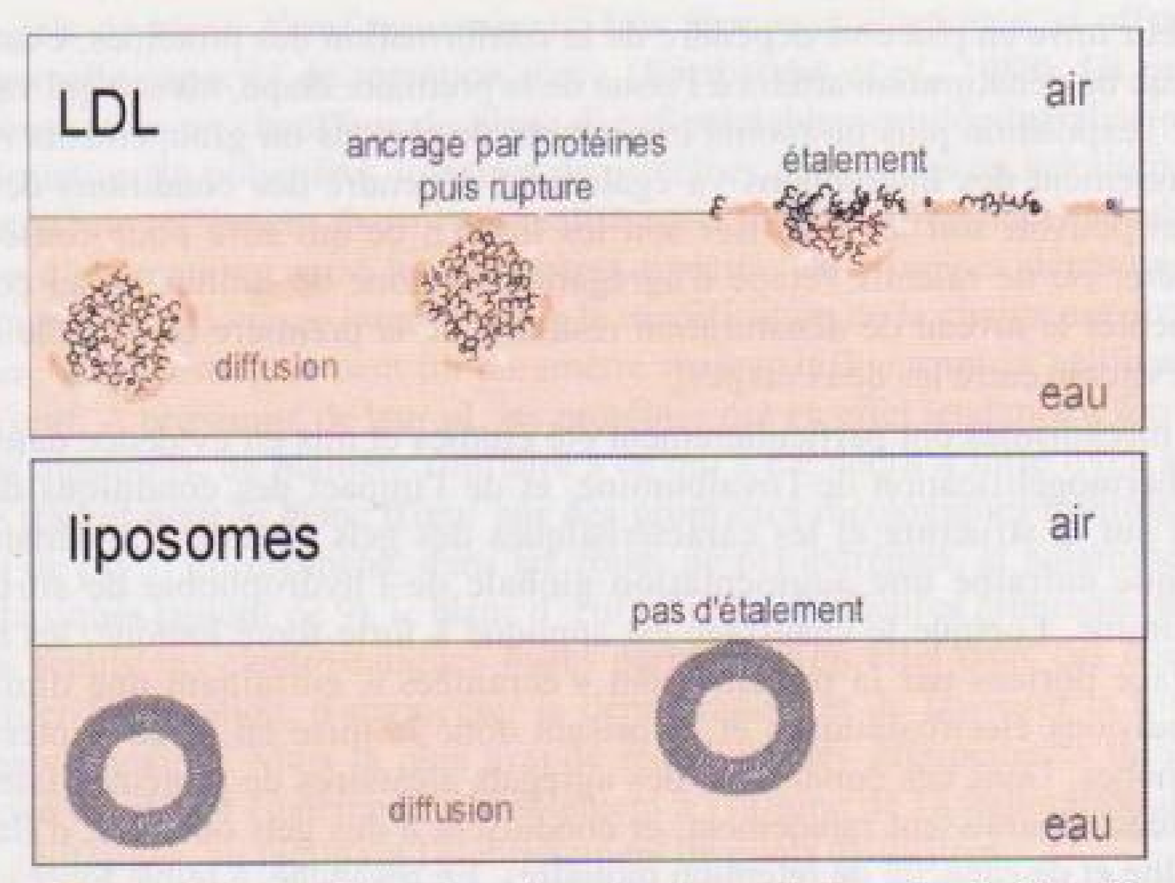


Figure 47 ■ Description schématique du mécanisme d'adsorption à l'interface air-eau des LDL du jaune d'œuf et de liposomes.

Le blanc d'œuf perd sa fluidité vers 60 °C, mais le maximum de fermeté est atteint au-delà de 70 °C. À l'exception de l'ovomucine et de l'ovomucoïde, toutes les protéines du blanc d'œuf coagulent à la chaleur. Elles n'ont cependant pas toutes le même comportement vis-à-vis des traitements thermiques. Leurs températures de dénaturation sont par exemple très différentes : à pH 7 dans le blanc d'œuf, elles sont respectivement de l'ordre de 85, 74 et 63 °C pour l'ovalbumine, le lysozyme et l'ovotransferrine (Donovan *et al.*, 1975). Cette dernière est ainsi la protéine la plus thermosensible des protéines du blanc d'œuf, ce qui conduit habituellement à la considérer comme la protéine « initiatrice » de la gélification. On peut effectivement très nettement augmenter la température de coagulation du blanc d'œuf et améliorer les propriétés rhéologiques des gels obtenus par élimination sélective de l'ovotransferrine ou bien par la fixation d'ions métalliques (Al^{3+}, Fe^{3+}) augmentant sa thermostabilité.

Conséquence d'une modification de l'équilibre entre forces d'attraction et de répulsion entre protéines, la thermogélification des protéines de blanc d'œuf répond parfaitement au modèle de la gélification thermo-induite des protéines globulaires. Il s'agit donc fondamentalement d'un phénomène en deux étapes : dénaturation thermique des protéines, suivie d'une agrégation des protéines dénaturées (cf. chapitre 8, § 2.4.).

Les caractéristiques macroscopiques des gels obtenus (fermeté, résistance à la rupture, élasticité, capacité de rétention d'eau, etc.) dépendent du nombre et de la nature (énergie) des interactions créées. Dans les gels thermotropiques de blanc d'œuf, les liaisons impliquées sont essentiellement des liaisons de faible énergie (interactions hydrophobes et électrostatiques), mais des liaisons covalentes (ponts disulfures), de forte énergie, existent également. Quel que soit le type d'interac-

tions, leur mise en place va dépendre de la conformation des protéines, c'est-à-dire du niveau de dénaturation atteint à l'issue de la première étape, niveau qui va conditionner l'exposition plus ou moins importante de régions ou groupements réactifs. L'établissement des interactions va également dépendre des conditions de milieu qui vont pouvoir soit les favoriser soit les limiter, ce qui aura pour conséquence d'accélérer ou de ralentir l'étape d'agrégation, et donc de limiter ou au contraire d'augmenter le niveau de dénaturation résultant de la première étape (rôle du rapport de vitesse entre les deux étapes).

Ces mécanismes ont particulièrement été étudiés et mis en évidence dans le cas de la thermogélification de l'ovalbumine, et de l'impact des conditions de force ionique sur la structure et les caractéristiques des gels obtenus. La dénaturation thermique entraîne une augmentation globale de l'hydrophobie de surface de l'ovalbumine. Lorsque le chauffage est appliqué à forte force ionique, les charges de surface portées par la protéine sont « écrantées », entraînant une diminution des répulsions électrostatiques et favorisant donc la mise en place d'interactions hydrophobes. Dans ces conditions, des agrégats aléatoires de protéines faiblement dénaturées apparaissent rapidement, et conduisent à des gels opaques, d'élasticité, de rigidité et de capacité de rétention moindres. En revanche, à faible force ionique, les répulsions électrostatiques sont telles que, d'une part elles retardent l'agrégation, ce qui est favorable à une plus grande dénaturation (prédominance de la première étape), et que d'autre part cette agrégation ne peut se faire que *via* certains points de contact (zones hydrophobes), ce qui aboutit à la formation d'agrégats linéaires (figure 48). Replacés dans des conditions de force ionique plus élevée, ces agrégats linéaires peuvent alors interagir pour former des gels translucides.

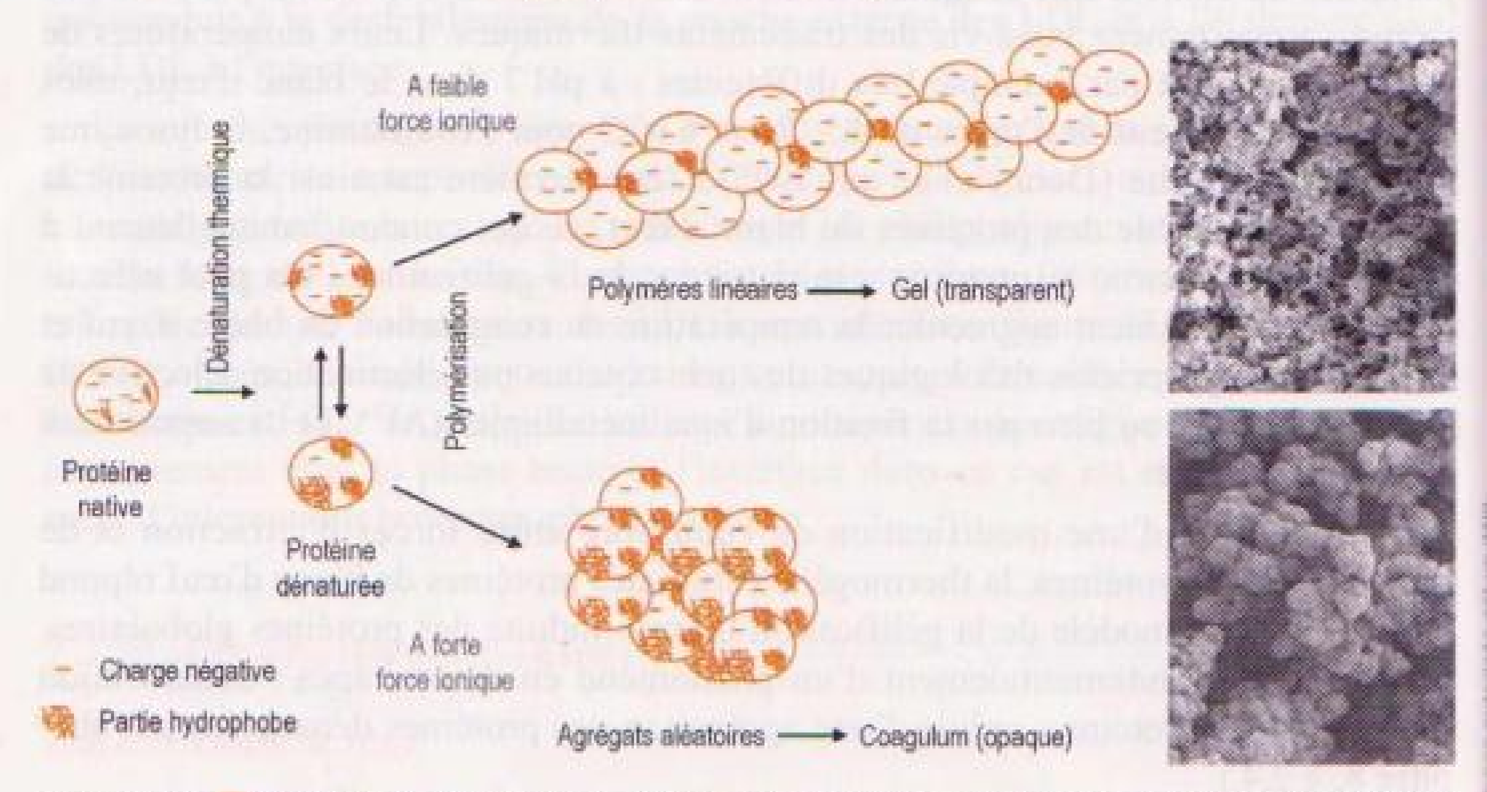


Figure 48 ■ Impact de la force ionique sur la thermogélification de l'ovalbumine : modèle mécanistique (d'après Doi, 1993) et observations par microscopie électronique des gels de blanc d'œuf correspondants (Croguennec *et al.*, 2002).

L'ovalbumine jouant un rôle majeur dans les propriétés gélifiantes du blanc d'œuf, l'impact de la force ionique tel que décrit ci-dessus est transposable au blanc d'œuf. Un procédé de chauffage en deux étapes a ainsi été proposé pour prépa-

rer des gels de blanc d'œuf transparents, très fermes et élastiques, et offrant une exceptionnelle capacité de rétention d'eau (Kitabatake *et al.*, 1988). La première étape consiste en un chauffage du blanc d'œuf préalablement déminéralisé par dialyse (formation de polymères linéaires de protéines dénaturées en solution), suivie d'un deuxième traitement thermique réalisé cette fois-ci en présence de sels (mise en place d'interactions entre les polymères linéaires de protéines dénaturées). De même que la force ionique intervient *via* la modification de la charge apparente des protéines, le pH est également un paramètre majeur influençant la gélification du blanc d'œuf. À proximité de leur pI, les protéines ont en effet tendance à former des agrégats aléatoires, de manière similaire à ce qui a été décrit à forte force ionique. Cela se traduit pour le blanc d'œuf par des propriétés rhéologiques minimales aux environ de pH 5. En revanche, dans les zones de pH extrêmes, et notamment vers les pH basiques (autour de 9), le blanc d'œuf offre les meilleures propriétés gélifiantes. Les répulsions électrostatiques fortes permettent en effet dans ces conditions de retarder l'agrégation, d'augmenter la dénaturation, et de favoriser la formation d'agrégats linéaires. Mais la plus grande réactivité des groupements thiols dans cette zone de pH est également probablement à l'origine de l'amélioration des propriétés gélifiantes, en facilitant l'établissement de ponts disulfures.

2.2.2. *Jaune d'œuf*

Le jaune d'œuf gélifie quand il est soumis à un traitement thermique ou à un procédé de congélation-décongélation. Avec un taux de matière sèche de 24 %, une concentration en NaCl de 0,17 M et un pH de 6,1, le jaune d'œuf et le plasma gélifient après un traitement thermique de 72 °C pendant 2 min 30 s alors que les granules ne gélifient pas (Le Denmat *et al.*, 1999). Les constituants responsables de la gélification du jaune d'œuf sont donc des constituants du plasma, et plus particulièrement les LDL. Les autres constituants du jaune ne participent pas ou très peu.

La gélification de solutions de plasma (et donc de jaune d'œuf) est favorisée à pH neutre et/ou forte concentration en NaCl. Ces conditions correspondent à une forte neutralisation des charges des protéines des LDL, ce qui limite l'intensité de répulsion électrostatique à courte distance, et favorise ainsi l'agrégation entre protéines. Les temps de gélification enregistrés, quelles que soient les conditions de pH et de force ionique, sont très courts. Ceci est propre aux processus de coagulation. Les gels sont opaques, signe de diffraction de la lumière par des particules de taille élevée (agrégats de protéines).

Les viscosités apparentes du jaune et du plasma après traitement thermique sont fortement corrélées à la perte de solubilité des protéines des échantillons (figure 49). La quantité de protéines solubles diminue lorsque la gélification a lieu. En revanche, le coefficient de corrélation entre la viscosité apparente et la solubilité des protéines est faible pour les granules.

À force ionique 0,17 M et pH 6,1, les granules semblent pouvoir supporter des traitements thermiques plus importants que le jaune et le plasma sans subir de gélification. La structure des granules est conservée dans les conditions de milieu imposées :

– seulement 24 % des protéines des granules sont solubles ;

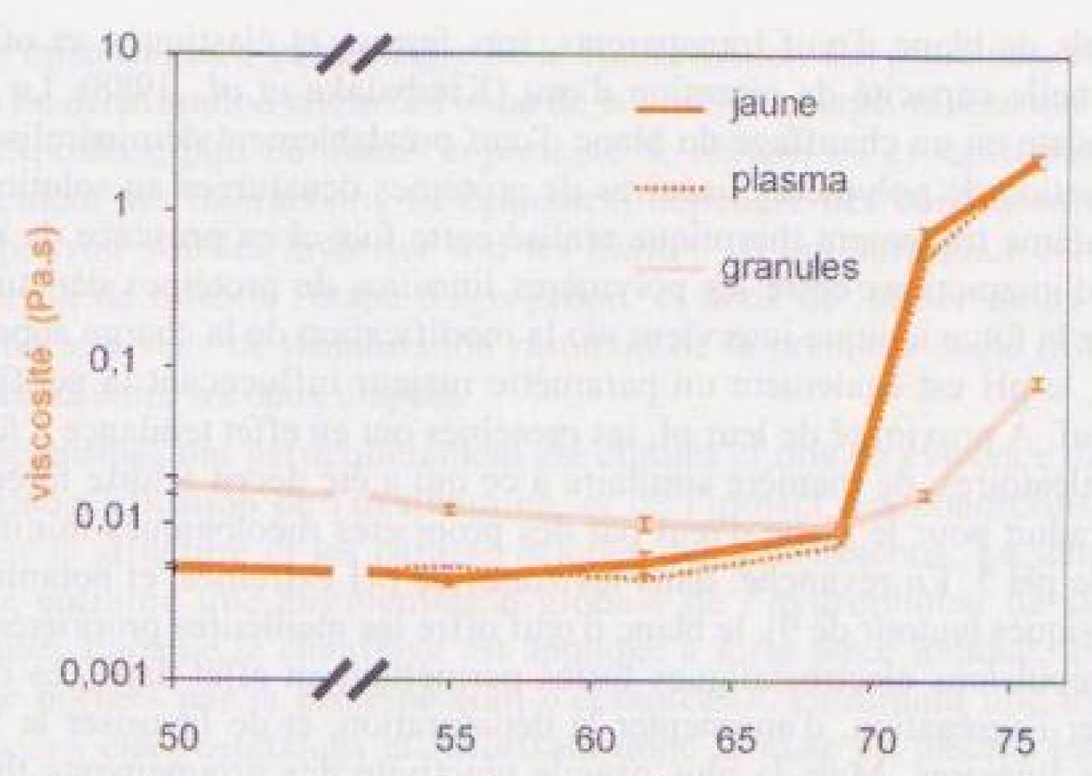


Figure 49 ■ Effet de la température sur la viscosité de solutions de jaune d'œuf, plasma et granules, pH 6,1, 0,17 M NaCl, concentration : 24 % de matière sèche.

– les ponts phosphocalciques sont maintenus dans les granules ;

– les constituants des granules, notamment la phosvitine et les HDL, sont maintenus dans des agrégats.

Bien que la structure granulaire n'empêche pas la dénaturation d'une partie des protéines (HDL-α et LDL), la résistance de la phosvitine et des HDL-β permet aux granules de conserver leur structure, de limiter leur agrégation et la formation d'un réseau gélifié.

En revanche, dans des conditions où les constituants des granules sont solubilisés (NaCl 0,5 M), une gélification se produit au cours du traitement thermique. Les gels formés présentent un aspect opaque qui signale leur structure particulaire, ce qui suggère un mécanisme de coagulation. Du fait de la très faible proportion des apo-LDL (3 % des protéines) et de la résistance de la phosvitine aux traitements thermiques, il en est déduit que ce sont les HDL qui sont responsables de la gélification.

Lorsque l'on travaille avec les LDL purifiées, les solutions de LDL (4 % p/v) commencent à se dénaturer à 70 °C et forment des gels à partir de 75 °C. Les mêmes solutions chauffées à 80 °C pendant 5 min forment des gels plus stables que ceux obtenus avec la sérumalbumine bovine. À l'inverse de la SAB, les LDL présentent une gélification au chauffage sur une large gamme de pH. Entre pH 6 et pH 9, les LDL forment des gels opaques alors que pour les pH extrêmes (4-6 et 8-9) les gels sont translucides.

La gélification à la chaleur des LDL est gouvernée par la dénaturation des protéines. La première étape est la déstructuration des LDL favorisée par la dénaturation des protéines. La deuxième étape est l'accroissement des interactions entre protéines, notamment des interactions hydrophobes.

En ce qui concerne la gélification des LDL à la congélation, il apparaît que la déshydratation causée par la formation de cristaux de glace favorise la dénaturation

des protéines. Ensuite, comme pour la gélification à la chaleur, les interactions protéines-protéines permettent l'établissement du gel.

3. Industrie des ovoproduits : technologies et produits

Sont appelés ovoproduits « les produits obtenus à partir de l'œuf, de ses différents composants ou de leurs mélanges, après élimination de la coquille et des membranes, et destinés à la consommation humaine ; ils peuvent être partiellement complétés par d'autres denrées alimentaires ou additifs ; ils peuvent être soit liquides, soit concentrés, séchés, cristallisés, congelés, surgelés ou coagulés » (arrêté du 15 avril 1992). Cette définition amène à considérer deux grandes catégories d'ovoproduits : les ovoproduits dits de première transformation, correspondant à de l'œuf entier, du jaune ou du blanc d'œuf présentés sous différentes formes et destinés à être utilisés en tant qu'ingrédients technofonctionnels ; et les ovoproduits dits de deuxième transformation qui sont en fait la reproduction à l'échelle industrielle de recettes « ménagères » classiques et qui sont donc des produits cuits ou précuits, tels que les œufs durs écalés (c'est-à-dire décoquillés), les œufs pochés, frits, les omelettes, les blancs d'œufs battus en neige, etc.

L'industrie des ovoproduits est relativement récente (années 1970) et connaît depuis plusieurs années une croissance importante (+ 6,7 % / an entre 1990 et 2000 en France). Comme toute industrie agroalimentaire, ce secteur est soumis à un certain nombre de contraintes réglementaires dont un des objectifs majeurs est la maîtrise de l'hygiène. Pour cela, des exigences sont édictées en matière d'organisation des sites industriels (locaux et flux) et de qualité de la matière première : seuls les œufs non incubés propres à la consommation humaine, présentant une coquille entièrement développée et sans défauts, sont utilisables pour la préparation des produits destinés à l'alimentation humaine. Le contenu d'un œuf pondu par une poule saine est, dans une très large majorité des cas, stérile et si la coquille est intègre, il le restera longtemps sans conditions particulières de conservation. Si de plus l'œuf est conservé au frais (entre 12 et 15 °C) depuis la ponte jusqu'à sa transformation, on réduit encore de façon considérable les risques de développement microbien dans les œufs fragilisés, par une fêlure de la coquille par exemple. En revanche, dès qu'on élimine cette protection naturelle qu'est la coquille, le contenu de l'œuf est inévitablement contaminé (il est impossible au niveau industriel de réaliser un cassage stérile) et sa conservation pose alors de nombreuses difficultés. Si le blanc d'œuf n'est pas un milieu très favorable au développement des micro-organismes car c'est un milieu incomplet et qui contient de nombreux facteurs antimicrobiens (lysozyme, ovotransferrine, ovomucoïde, avidine, etc.), il en est tout autrement du jaune d'œuf ou de l'œuf entier qui sont des milieux de culture idéaux pour le développement des micro-organismes.

Afin de maîtriser la qualité microbienne des ovoproduits, il est donc nécessaire de limiter leur contamination initiale, d'éliminer tout ou partie de cette flore de contamination et de limiter, voire d'empêcher son développement par différents moyens de stabilisation. La difficulté à laquelle les industriels doivent alors faire

face est liée à la très grande fragilité des constituants protéiques de l'œuf vis-à-vis des procédés technologiques de stabilisation mis en œuvre, avec toutes les conséquences que cela induit en termes de pertes de propriétés technofonctionnelles, particulièrement préjudiciables dans le cas des ovoproduits de première transformation. L'industrie des ovoproduits offre ainsi aujourd'hui une gamme de produits, issus de schémas technologiques variés, dans le but de répondre au plus près à leurs utilisations technofonctionnelles (figure 50).

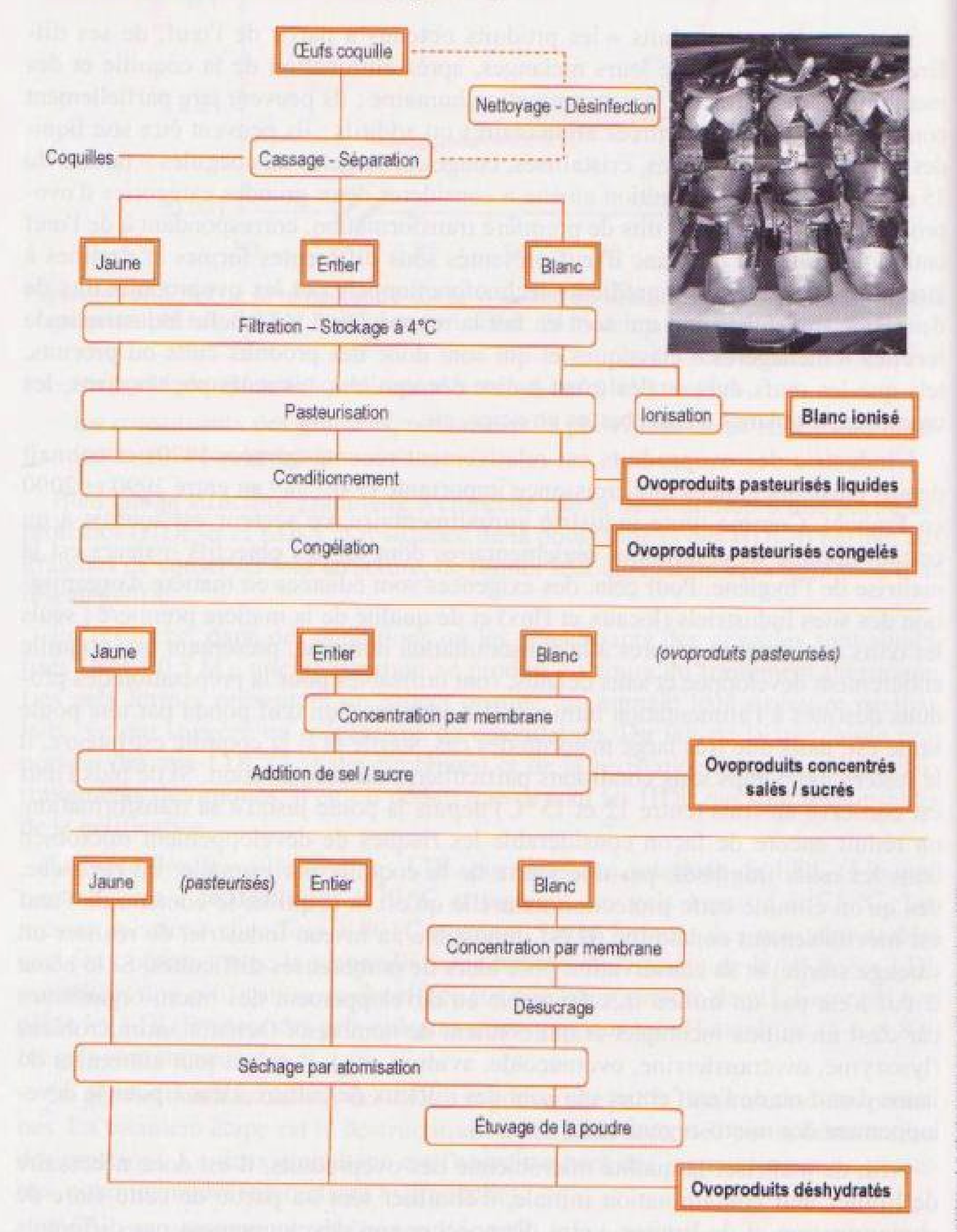


Figure 50 ■ Diagramme de fabrication des ovoproduits de première transformation.

3.1. Décontamination des coquilles

Mis à part le respect de bonnes pratiques hygiéniques (nettoyage et désinfection du matériel, hygiène du personnel, respect de la marche en avant), une manière de limiter la contamination de l'ovoproduit est le nettoyage et la désinfection des coquilles avant cassage. L'élimination de la flore de surface par brossage, lavage, désinfection et séchage des œufs peut en effet réduire considérablement la charge microbienne de l'ovoproduit, à condition toutefois que toutes ces opérations soient effectuées très soigneusement ; la qualité du séchage est en particulier un facteur décisif vis-à-vis du résultat final. Réalisée dans certains pays au niveau des élevages, la désinfection des coquilles nécessite le respect de la chaîne du froid et limite dans le temps la conservation de l'œuf, car la cuticule, éliminée lors de ces opérations, ne peut alors plus jouer son rôle de barrière. En France, le lavage des œufs est interdit au niveau de la production et de la vente des œufs coquille mais autorisé juste avant cassage (la réglementation indique d'ailleurs que « les œufs doivent si nécessaire être lavés et désinfectés »). Mais dans la pratique, très peu de fabricants d'ovoproduits français, et plus généralement européens, lavent les œufs avant cassage.

3.2. Cassage et séparation du blanc et du jaune

Les œufs doivent obligatoirement être cassés individuellement, soit mécaniquement, soit manuellement. Des équipements spécifiques (appelées « casseuses ») ont donc été développés, fonctionnant à des cadences de production pouvant aller actuellement jusqu'à 80 000 œufs·h^{-1}, et permettant une séparation immédiate ou très légèrement différée dans le temps du blanc et du jaune. Les produits sont ensuite filtrés pour éliminer les fragments de coquille (objectif inférieur à 100 mg de coquille·kg^{-1} de produit), puis refroidis à 4 °C avant d'être envoyés en cuves de stockage. Des ajustements d'extrait sec, des additions de sel, de sucre ou de certains additifs autorisés (guar, xanthane dans le blanc d'œuf par exemple) peuvent être réalisés dans les cuves de stockage.

À l'issue du cassage et de la séparation, les produits bruts obtenus sont du blanc d'œuf dont l'extrait sec varie entre 10 et 11 % et le pH entre 8,5 et 9,5, du jaune d'œuf à pH 6,5 et dont l'extrait sec varie de 42 à 48 %, et de l'œuf entier dont l'extrait sec varie de 20 à 24 % et le pH entre 7 et 7,5. Les variations d'extrait sec pour le jaune et l'entier sont essentiellement liées aux performances du matériel (qualité de la séparation blanc-jaune), elles-mêmes fonction du type de matériel et de la cadence d'utilisation. Les coquilles éliminées à cette étape constituent un sous-produit avec un taux d'humidité relativement élevé (près de 30 %), dû aux traces de blanc d'œuf adhérentes aux coquilles. Cette humidité résiduelle est à l'origine des risques de développement microbien important dans ce sous-produit qui doit donc être stabilisé. Les coquilles sont pour cela broyées puis « essorées » par centrifugation, ce qui permet de diminuer environ de moitié le taux d'humidité. Elles peuvent ensuite être séchées dans des tunnels à air chaud, avant d'être utilisées comme amendement calcaire pour l'agriculture. Une part infime de ces coquilles est également destinée à l'alimentation (apport calcique), après avoir subi des traitements thermiques garantissant la destruction complète des micro-organismes.

3.3. Décontamination et stabilisation des ovoproduits de première transformation

3.3.1. *Traitements thermiques*

Parmi les caractéristiques des protéines d'œuf, leur thermosensibilité est assurément celle qui a le plus de conséquences pour le technologue. Les protéines du blanc les plus sensibles à la chaleur commencent à se dénaturer dès 57 °C, ce qui signifie qu'il n'est pas possible de stériliser les ovoproduits, ni même d'appliquer des barèmes de pasteurisation tels que ceux en vigueur dans le secteur laitier par exemple. Malgré cela, les traitements de décontamination microbienne des ovoproduits les plus efficaces et les plus répandus demeurent les traitements thermiques, et parmi eux la pasteurisation.

Les traitements appliqués (couple temps-température) dépendent de plusieurs facteurs :

- de la DLC désirée : de quelques jours à moins de 4 °C pour les ovoproduits liquides en gros conditionnement et destinés aux IAA, à plusieurs semaines (jusqu'à 60 jours) pour des ovoproduits en petit conditionnement (1 à 2 kg) destinés aux artisans pâtissiers et cuisiniers, aux restaurants, aux petites collectivités ; des DLC de plusieurs mois à température ambiante peuvent aussi être obtenues pour des produits concentrés par des technologies à membrane (ultrafiltration) et additionnés de fortes concentrations de sucre ou de sel ;
- de la fonctionnalité désirée (propriétés moussantes ou gélifiantes du blanc d'œuf notamment), l'effet négatif des traitements thermiques sur les propriétés fonctionnelles étant proportionnel à leur sévérité.

Dans tous les cas, l'objectif à atteindre est une destruction totale des germes pathogènes et en particulier des salmonelles et la garantie de la conservation du produit jusqu'à la fin de la DLC.

Les matériels utilisés pour la pasteurisation des ovoproduits sont des échangeurs de chaleur à plaques ou tubulaires de conception classique. Les barèmes de pasteurisation habituellement mis en œuvre sont de l'ordre de 65 °C pendant 2 à 6 min pour l'œuf entier et le jaune, et de l'ordre de 57 °C pendant 2 à 6 min pour le blanc d'œuf. Il existe également quelques appareils spécifiques, de type tube conducteur de courant, à chauffage ohmique ou tubulaire concentrique qui permettent des traitements à plus haute température pendant un temps plus court (70 °C-100 s par exemple). Ce type de traitement, suivi d'un conditionnement ultrapropre, permet l'obtention d'ovoproduits de longue conservation.

Face à l'impossibilité d'appliquer au blanc d'œuf liquide des traitements thermiques élevés, les opérateurs industriels de ce secteur ont développé depuis de très nombreuses années un procédé spécifique de traitement thermique de ce produit à l'état déshydraté. L'étuvage de la poudre de blanc d'œuf est ainsi devenu un procédé de décontamination systématique, qui offre par ailleurs l'avantage de ne nécessiter que peu d'investissement. Cette opération consiste à maintenir la poudre en chambre chaude (aux environs de 65 °C pendant une dizaine de jours), ce qui permet d'assurer la destruction des pathogènes et d'une grande partie de la flore banale. Plus récemment, il a été montré que des barèmes d'étuvage plus sévères (de 75 à 80 °C pendant une dizaine

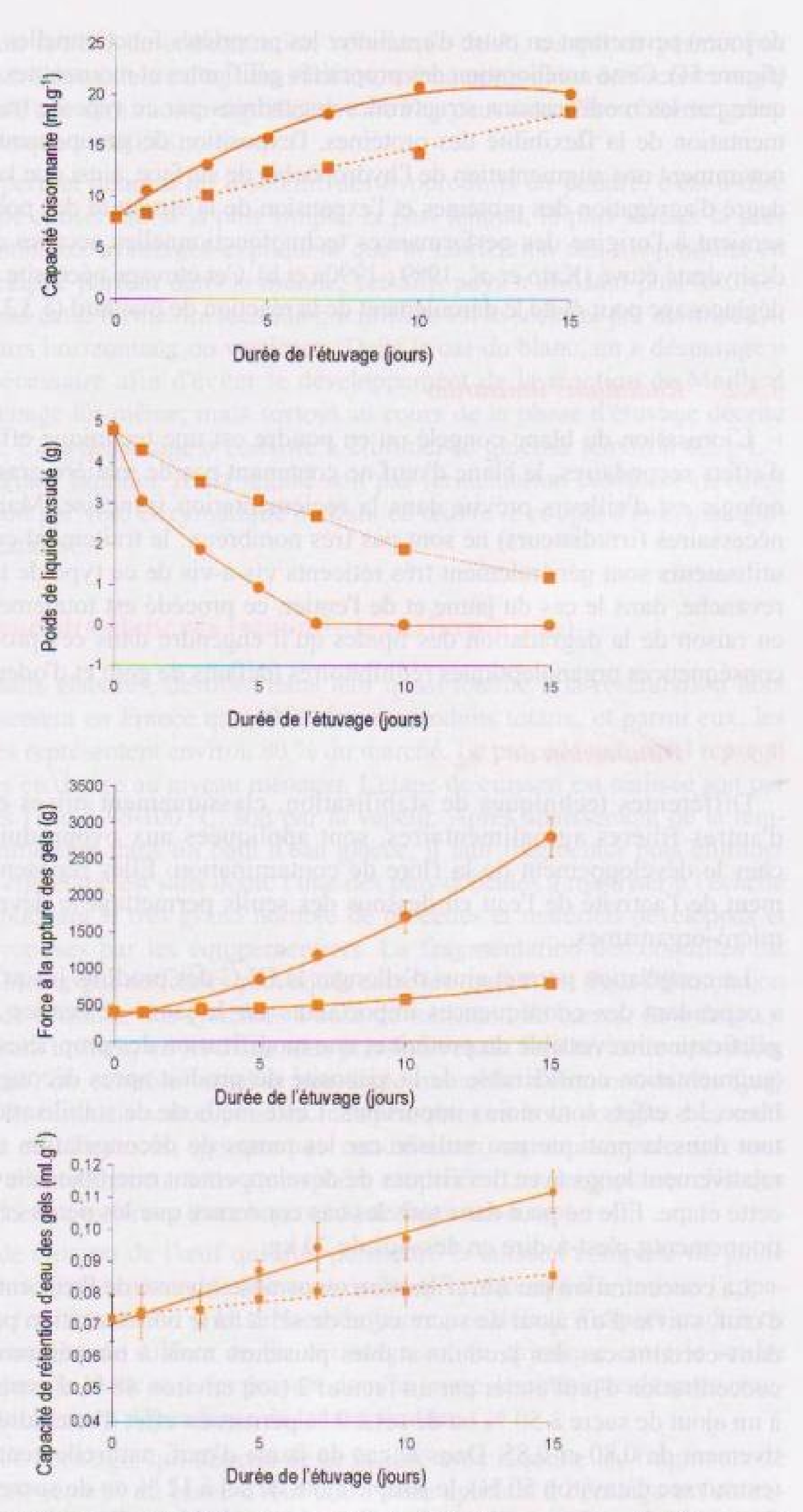


Figure 51 ■ Évolution des propriétés moussantes et gélifiantes au cours de l'étuvage à 67 °C (■) et 75 °C (●) de la poudre de blanc d'œuf (d'après Baron *et al.*, 2003).

de jours) permettent en outre d'améliorer les propriétés fonctionnelles du blanc d'œuf (figure 51). Cette amélioration des propriétés gélifiantes et moussantes a pu être expliquée par les modifications structurales engendrées par ce type de traitement. L'augmentation de la flexibilité des protéines, l'exposition de groupements réactifs avec notamment une augmentation de l'hydrophobie de surface, ainsi que la diminution du degré d'agrégation des protéines et l'expansion de la structure des polymères formés seraient à l'origine des performances technofonctionnelles accrues du blanc d'œuf déshydraté étuvé (Kato *et al.*, 1989 ; 1990a et b). Cet étuvage nécessite au préalable un déglucosage pour évite le déroulement de la réaction de maillard (§ 3.3.3.).

3.3.2. Radiations ionisantes

L'ionisation du blanc congelé ou en poudre est une technique efficace avec peu d'effets secondaires, le blanc d'œuf ne contenant pas de matière grasse. Cette technologie est d'ailleurs prévue dans la réglementation française. Mais les matériels nécessaires (irradiateurs) ne sont pas très nombreux, le traitement coûte cher et les utilisateurs sont généralement très réticents vis-à-vis de ce type de technologie. En revanche, dans le cas du jaune et de l'entier, ce procédé est totalement inapplicable en raison de la dégradation des lipides qu'il engendre dans ces produits, avec des conséquences organoleptiques rédhibitoires (défauts de goût et d'odeur).

3.3.3. Diminution de l'a_w

Différentes techniques de stabilisation, classiquement mises en œuvre dans d'autres filières agroalimentaires, sont appliquées aux ovoproduits pour empêcher le développement de la flore de contamination. Elles reposent sur l'abaissement de l'activité de l'eau en dessous des seuils permettant le développement des micro-organismes.

La congélation permet ainsi d'allonger la DLC des produits jusqu'à 24 mois. Elle a cependant des conséquences importantes sur le jaune et l'entier, entraînant une gélification irréversible du produit et une modification des propriétés fonctionnelles (augmentation considérable de la viscosité du produit après décongélation). Sur le blanc, les effets sont moins importants. Cette méthode de stabilisation reste malgré tout dans la pratique peu utilisée car les temps de décongélation du produit sont relativement longs avec des risques de développement microbien élevés au cours de cette étape. Elle ne peut dans tous les cas concerner que les petits et moyens conditionnements, c'est-à-dire en dessous de 20 kg.

La concentration par ultrafiltration ou osmose inverse de l'œuf entier ou du blanc d'œuf, suivie d'un ajout de sucre et/ou de sel à forte concentration permet d'obtenir dans certains cas des produits stables plusieurs mois à température ambiante. La concentration d'œuf entier par un facteur 2 (soit environ 48 % d'extrait sec) associée à un ajout de sucre à 50 % ou de sel à 9 % permet en effet d'atteindre des a_w respectivement de 0,80 et 0,85. Dans le cas du jaune d'œuf, naturellement très concentré (extrait sec d'environ 50 %), le simple ajout de sel à 12 % ou de sucre à 50 % permet d'atteindre les mêmes valeurs d'a_w. Dans le cas du blanc d'œuf, la concentration par membrane n'est généralement effectuée que jusqu'à un taux d'extrait sec final

de 33 % (soit un facteur de concentration volumique de 3), ce qui ne permet pas ensuite d'atteindre des valeurs d'a_w aussi faibles, même après ajout de sucre et/ou de sel ; malgré tout, une diminution significative de l'a_w peut aussi être obtenue grâce à ce procédé (jusque vers 0,88).

Le séchage permet quant à lui d'obtenir des ovoproduits en poudre, c'est-à-dire sous la forme de conservation la plus simple, la plus longue, la plus sûre et la plus souple. Ces nombreux avantages expliquent que la fabrication des ovoproduits en poudre se développe partout dans le monde, certains pays n'utilisant plus les ovoproduits que sous cette forme. La technologie utilisée est le séchage par atomisation dans des sécheurs horizontaux ou verticaux. Dans le cas du blanc, un « désucrage » préalable est nécessaire afin d'éviter le développement de la réaction de Maillard au cours du séchage lui-même, mais surtout au cours de la phase d'étuvage décrite précédemment. Ce « désucrage » consiste à éliminer le glucose (environ 0,5 $g{\cdot}L^{-1}$ dans le blanc d'œuf liquide). Il est réalisé soit par fermentation contrôlée (levures ou bactéries), soit par voie enzymatique mettant en œuvre le couple d'enzymes glucose oxydase-catalase.

3.4. Ovoproduits élaborés (seconde transformation)

Les ovoproduits élaborés, destinés dans leur quasi-totalité à la restauration hors foyer, ne représentent en France que 10 % des ovoproduits totaux, et parmi eux, les œufs durs écalés représentent environ 80 % du marché. Le procédé industriel reprend les étapes mises en œuvre au niveau ménager. L'étape de cuisson est réalisée soit par immersion dans l'eau à 98-100 °C, soit par la vapeur. Après abaissement de la température par immersion dans un bain d'eau glacée, il faut fragmenter puis éliminer les coquilles. Cette étape est sans doute l'une des plus délicates à maîtriser à l'échelle industrielle, expliquant le très grand nombre de procédés et matériels développés et actuellement proposés par les équipementiers. La fragmentation des coquilles est généralement obtenue par des chocs provoqués entre les œufs cuits. Pour l'élimination des fragments de coquille, des systèmes à base de rouleaux, de barres, de « doigts » en caoutchouc sont utilisés, un jet d'eau sous pression venant faciliter cette opération. Dans tous les cas, un contrôle visuel et une étape manuelle d'élimination des fragments de coquille résiduels sont cependant indispensables en bout de ligne. Les œufs durs écalés sont ensuite rincés, égouttés puis conditionnés, soit en saumure, soit sous film plastique, éventuellement sous atmosphère modifiée. Les deux points clés que les industriels doivent maîtriser dans le procédé de fabrication sont :

- le niveau de cuisson de l'œuf qui doit permettre la cuisson complète du jaune d'œuf, sans toutefois atteindre une surcuisson qui risquerait d'entraîner l'apparition d'un liseré vert-noir à la surface du jaune ; ce défaut d'aspect traduit en effet la formation de sulfure de fer *via* une réaction chimique entre le soufre abondant dans le blanc et le fer présent dans le jaune, la cinétique de cette réaction étant totalement dépendante de la température ;
- la qualité de l'écalage, qui dépend de la facilité avec laquelle les fragments de coquille sont séparés du blanc d'œuf cuit ; cette aptitude à l'écalage est clairement corrélée au pH du blanc d'œuf avant cuisson qui doit être supérieur à 8,5 ; ce critère exclut donc l'utilisation d'œufs très frais pour ce type de fabrication.

De nombreux procédés ont par ailleurs été développés pour produire à l'échelle industrielle des produits aussi variés que des œufs pochés, frits, brouillés, des omelettes, des blancs d'œufs en neige, etc. Malgré l'apparente simplicité de ces produits, de nombreuses difficultés techniques se cachent derrière les procédés qui permettent de les fabriquer.

3.5. Produits d'extraction de l'œuf

Il est possible d'extraire, à l'échelle du laboratoire ou de productions pilotes, un grand nombre de constituants de l'œuf, notamment des protéines. Mais si ces produits sont pour beaucoup disponibles auprès des fournisseurs de produits biochimiques, seul le lysozyme, utilisé tant en agroalimentaire qu'en pharmacie pour ses propriétés antibactériennes, représente effectivement des tonnages significatifs à l'échelle mondiale. Le lysozyme est extrait par chromatographie d'échange de cations (cf. chapitre 11, § 1.2.).

Références bibliographiques
de la première partie

Aluko RE, Keeratiurai M, Mine Y (1998). Competitive adsorption between egg yolk lipoproteins and whey proteins on oil-in-water interfaces. *Colloids Surf B : Biointerfaces*, **10** : 385-393.

Anton M, Gandemer G (1997). Composition, solubility and emulsifying properties of granules and plasma of hen egg yolk. *J Food Sci*, **62** (3) : 484-487.

Anton M, Le Denmat M, Gandemer G (2000). Thermostability of hen egg yolk granules : contribution of granular structure. *J Food Sci*, **65** (4) : 581-584.

Baron F, Nau F, Guérin-Dubiard C, Gonnet F, Dubois JJ, Gautier M (2003). Effect of dry heating on the microbiological quality, functional properties, and natural bacteriostatic ability of egg white after reconstitution. *J Food Prot*, **66** : 825-832.

Christie WW (1995). Composition and structure of milk lipids. *In* : Fox PF, *Advanced Dairy Chemistry*, volume 2, Lipids, 2nd ed, 1-28.

Croguennec T, Nau F, Brulé G (2002). Influence of pH and salts on egg white gelation. *J Food Sci*, **67** (2) : 608-614.

Dalgleish DG, Spagnuolo PA, Goff HD (2004). A possible structure of the casein micelle based on high-resolution field-emission scanning electron microscopy. *Int Dairy J*, 1025-1031.

Damodaran S, Anand K, Razumovsky L (1998). Competitive adsorption of egg white proteins at the air-water interface : direct evidence for electrostatic complex formation between lysozyme and other egg proteins at the interface. *J Agric Food Chem*, **46** : 872-876.

Doi E (1993). Gels and gelling of globular proteins. *Trends Food Sci Technol*, **4** : 1-5.

Donovan JW, Mapes CJ, Davis J, Garibaldi J (1975). A differential scanning calorimetric study of the stability of egg white to heat denaturation. *J Sci Food Chem*, **26** : 73.

Durand P (1999). *Technologies des produits de charcuterie et des salaisons*. Tec & Doc Lavoisier, Paris, 530 p.

Dyer-Hurdon JN, Nnanna IA (1993). Cholesterol content and functionality of plasma and granules fractionated from egg yolk. *J Food Sci*, **58** : 1277-1281.

Frentz JC, Zert P (1990). *L'encyclopédie de la charcuterie*. 3e édition, Ed. Soussana, 844 p.

Gaucheron F (2005). The minerals of milk. *Reprod Nutr Dev*, **45** : 473-483.

Girard JP (1988). *Technologie de la viande et des produits carnés*. Tec & Doc Lavoisier, Paris, 280 p.

Goff HD (1997). Colloidal aspect of ice cream : a review. *Int Dairy J*, **7** : 363-373.

Guérin-Dubiard C, Pasco M, Mollé D, Désert C, Croguennec T, Nau F (2006). Proteomic analysis of hen egg white. *J Agric Food Chem*, **54** : 3901-3910.

Hall GM, Ahmad NH (1992). Surimi and fish mince products. *In : Fish processing technology*, Blakie Academic & Professionnal, VCH Publishers, New York, 72-89.

Heertje I, Visser J, Smits P (1985). Structure formation in acid milk gels. *Food microstructure*, **4** : 267-277.

Holt C, Horne DS (1996). The hairy casein micelle : evolution of the concept and its implication for dairy technology. *Neth Milk Dairy J*, **50** : 85-111.

Horne DS (2002). Casein structure, self-assembly and gelation. *Current Opinion In colloid & interface science*, **7** : 456-461.

Huss HH (1988). Le poisson frais : qualité et altérations de la qualité. Collection Fao Pêche, **29** : 132 p.

Joubert FJ, Cook WH (1958). Preparation and characterization of phosvitin from hen egg yolk. *Canadian J Biochem Phys*, **36** : 399-408.

Kato A, Ibrahim HR, Watanabe H, Honma K, Kobayashi K (1989). New approach to

improve the gelling and surface functional properties of dried egg white by heating in dry state. *J Agric Food Chem*, **37** : 433-437.

Kato A, Ibrahim HR, Watanabe H, Honma K, Kobayashi K (1990a). Structural and gelling properties of dry-heating egg white proteins. *J Agric Food Chem*, **38** : 32-37.

Kato A, Ibrahim HR, Takagi T, Kobayashi K (1990b). Excellent gelation of egg white preheated in the dry state is due to the decreasing degree of aggregation. *J Agric Food Chem*, **38** : 1868-1872.

Kiosseoglou VD (1989). Egg yolk. *In* : Charalambous G, Doxastakis G (eds.), *Food Emulsifiers : Chemistry, Technology, Functional Properties and Applications*, Elsevier, London, 63-85.

Kitabatake N, Shimizu A, Doi E (1988). Preparation of transparent egg white gel with salt by two-step heating method. *J Food Sci*, **53** : 735-738.

Knockaert C (1989). Les marinades des produits de la mer. Collection *Valorisation des produits de la mer*, Ifremer, Brest, 78 p.

Lechevalier V, Croguennec T, Pezennec S, Guerin-Dubiard C, Pasco M, Nau F (2003). Ovalbumin, ovotransferrin, lysozyme : three model proteins for structural modifications at the air-water interface. *Agric Food Chem*, **51** : 6354-6361.

Lechevalier V, Croguennec T, Pezennec S, Guérin-Dubiard C, Pasco M, Nau F (2005). Evidence for synergy in the denaturation at the air-water interface of ovalbumin, ovotransferrin and lysozyme in ternary mixture. *Food Chem*, **92** : 79-87.

Le Denmat M, Anton M, Gandemer G (1999). Protein denaturation and emulsifying properties of plasma and granules of egg yolk as related to heat treatment. *J Food Sci*, **64** (2) : 194-197.

Le Denmat M, Anton M, Beaumal V (2000). Characterisation of emulsion properties and of interface composition in oil-in-water emulsions prepared with hen egg yolk, plasma and granules. *Food Hydrocolloids*, **14** : 539-549.

Leistner L (1985). Allegemeines über Rohwurst une Rohschinken. *In : Mikrobiologie, und Qualität von Rohwurst und Rohschinken*. Bundesanstlt für Fleischforschung, Kulmbach, Allemagne.

Li-Chan E, Nakai S (1989). Biochemical basis for the properties of egg white. *Crit Rev Poultry Biol*, **2** : 21-58.

Linden G, Lorient D (1994). Biochimie agro-industrielle : valorisation alimentaire de la production agricole. Éd. Masson, Paris, Milan, Barcelone, 368 p.

Lucey JA, Singh H (1998). Formation and physical properties of acid milk gel : a review. *Food Res Int*, **30** (7) : 529-542.

Mahaut M, Jeantet R, Brulé G, Schuck P (2000). *Les produits laitiers industriels*. Tec & Doc Lavoisier, Paris.

Martinet V, Beaumal V, Dalagalarrondo M, Anton M (2002). Emulsifying properties and adsorption behavior of egg yolk lipoproteins (LDL and HDL) in o/w emulsions. *Recent Res Dev Agric Food Chem*, **37** : 103-116.

Martinet V, Saulnier P, Beaumal V, Couthaudon JL, Anton M (2003). Surface properties of hen egg yolk low-density lipoproteins spread at the air-water interface. *Colloids Surf B : Bio-interfaces*, **31** : 185-194.

Masters K (1991). *Spray drying*. Longman Scientific & Technical and John Wiley & Sons Inc, Essex.

Maubois JL, Mocquot G, Vassal L (1969). Brevet français n° 2 052 121.

McMahon DJ, Brown RJ (1984). Composition, structure and integrity of casein micelles : A review. *J Dairy Sci*, **67** : 499-512.

Mecham D, Olcott H (1949). Phosvitin, the principal phosphoprotein of egg yolk. *J American Chem Soc*, **71** : 3822-3833.

Michalski MC, Michel F, Sainmont D, Briard V (2001). Apparent ζ-potential as a tool to assess mechanical damages to the milk fat globule membrane. *Colloids and interface B : Bio-interfaces*, **23** : 23-30.

Mietton B (1991). *In* : *Les bactéries lactiques* (1994), vol. II, édition Lorica, Uriage, France, 55-133.

Millet J (1998). À propos de la méthode Nizo. *Revue des ENIL*, **215** : 19-22.

Mine Y, Keeratiurai M (2000). Selective displacement of caseinate proteins by hens egg yolk lipoproteins at oil-in-water interfaces. *Colloids Surf B : Bio-interfaces*, **18** : 1-11.

Mizutani R, Nakamura R (1985). Physical state of the dispersed phases of emulsions prepared with egg yolk low density lipoprotein and bovine serum albumin. *J Food Sci*, **50** : 1621-1623.

Mok CC, Martin WG, Common RH (1961). A comparison of phosvitins prepared from hen's serum and from hen's egg yolk. *Canadian J Biochem Physiol*, **39** : 109-117.

Nakamura R, Hayakawa R, Sato Y (1977). Isolation and fractionation of the protein moiety of egg yolk low density lipoprotein. *Poultry Sci*, **56** : 1148-1152.

Piclet G (1987). Le poisson aliment : composition – intérêt nutritionnel. *C Nut Diet*, **22** (4) : 317-336.

Pisecky J (1981). Technology of skimmed milk. *J Soc Dairy Technol*, **34** : 57-67.

Powrie WD, Nakai S (1986). The chemistry of eggs and egg products. *In* : Stademan WJ, Cotterill OJ (ed.), *Egg Science and Technology*, The Avi Publishing Company, Inc. Westport, CT, 97-139.

Sauveur B (1988). Structure, composition et valeur nutritionnelle de l'œuf. *In* : *Reproduction des volailles et production d'œufs*, Éd. Inra, **14** : 347-436.

Schuck P, Piot M, Méjean S *et al.* (1994). Déshydratation des laits enrichis en caséine micellaire par microfiltration; comparaison des propriétés des poudres obtenues avec celles d'une poudre de lait ultra-propre. *Lait*, **74** : 47-63.

Shenton AJ (1979). Membrane composition and performance of food emulsions. Ph. D. thesis, University of London, UK.

Shewan JM (1974). The biodeterioration of certain proteinaceous foodstuffs at chill temperatures. *In* : Spencer B (ed.), *Industrial aspects of biochemistry*, Amsterdam, North Holland Publishing Co for Federation of European Biochemical Societies Societies, 475-490.

Solignat G (2005). Produits de charcuterie. Saison humide : lardons, jambon cuit. *Tech Ing*, **F 6 504** : 1-10.

Stevens L (1991). Egg white proteins. *Comp Biochem Physiol*, **100B** : 1-9.

Staron T (1986). L'encyclopédie nutritionnelle de l'homme, Publication Inra, 714 p.

Tamime AY (2002). Fermented milks : a historical food with modern applications : a review. *Europ J Clinic Nut*, **00** : 1-14.

Tamime AY, Robinson AK (1999). Background to manufacturing practice. *In* : Tamime AY, Robinson AK, *Yoghurt Science and technology*. Woodhead Publishing Limited, Cambridge, 11-128.

Thapon JL, Bourgeois CM (1994). *L'œuf et les ovoproduits*. Tec & Doc Lavoisier, Paris.

Van Aken GA (2001). Aeration of emulsions by whipping. *Colloïds and surface A : Physicochemical and engeneering aspects*, **190** : 333-354.

Deuxième partie

Biochimie et technologie des produits d'origine végétale

4

Du blé au pain et aux pâtes alimentaires

Les céréales sont définies comme des graines amylacées (riche en amidon) pouvant être transformées en farines et semoules à usage alimentaire ; le blé est l'espèce la plus représentative. Les graines céréalières ont été considérées depuis des millénaires comme des produits d'intérêt nutritionnel de par leur valeur énergétique, bien qu'ils soient déficients en certains acides aminés et vitamines et qu'ils présentent des facteurs antinutritionnels (effets décalcifiants provoqués par l'acide phytique présent dans les enveloppes). Les procédés technologiques de séparation et les opérations fermentaires permettent d'améliorer la valeur nutritionnelle (Aubert, 1985) ; en effet la fermentation naturelle des bouillies ou pâtes de céréales par les levures et bactéries lactiques assure une augmentation des teneurs en vitamines et acides aminés, une amélioration de la digestibilité et de la qualité microbienne.

À la différence des baies et des fruits qui peuvent être rapidement consommés en l'état, les céréales peuvent être stockées mais doivent être préparées pour être agréables à consommer ; comme l'illustre la figure 52 sont mis en œuvre :

- des procédés mécaniques de décorticage, de broyage et de tamisage pouvant conduire à l'obtention de farine ;
- des procédés fermentaires (fermentation spontanée ou dirigée) qui permettent d'améliorer la qualité des pâtes tant d'un point de vue technologique que nutritionnel et sensoriel ;
- des traitements thermiques qui ont un impact très important sur les qualités sensorielles et nutritionnelles.

Deux types de cuisson sont pratiqués :

• *la cuisson à très haute température,* dans un four, sur la braise, sur des plaques ou pierres chauffantes (figure 53) ; elle contribue à améliorer notablement le goût par les réactions de Maillard et de caramélisation qu'elle provoque. Les modifications de texture générées rendent possible une consommation directe de certains types de pâte (pâtes liquides ou fines sous forme de crêpes, galettes, etc.). Les pâtes épaisses, lourdes, difficiles à cuire, ne deviennent appétentes que si elles ont été préalablement expansées ;

• *la cuisson dans l'eau* permet d'améliorer la qualité sensorielle, la texture et la digestibilité des pâtes épaisses.

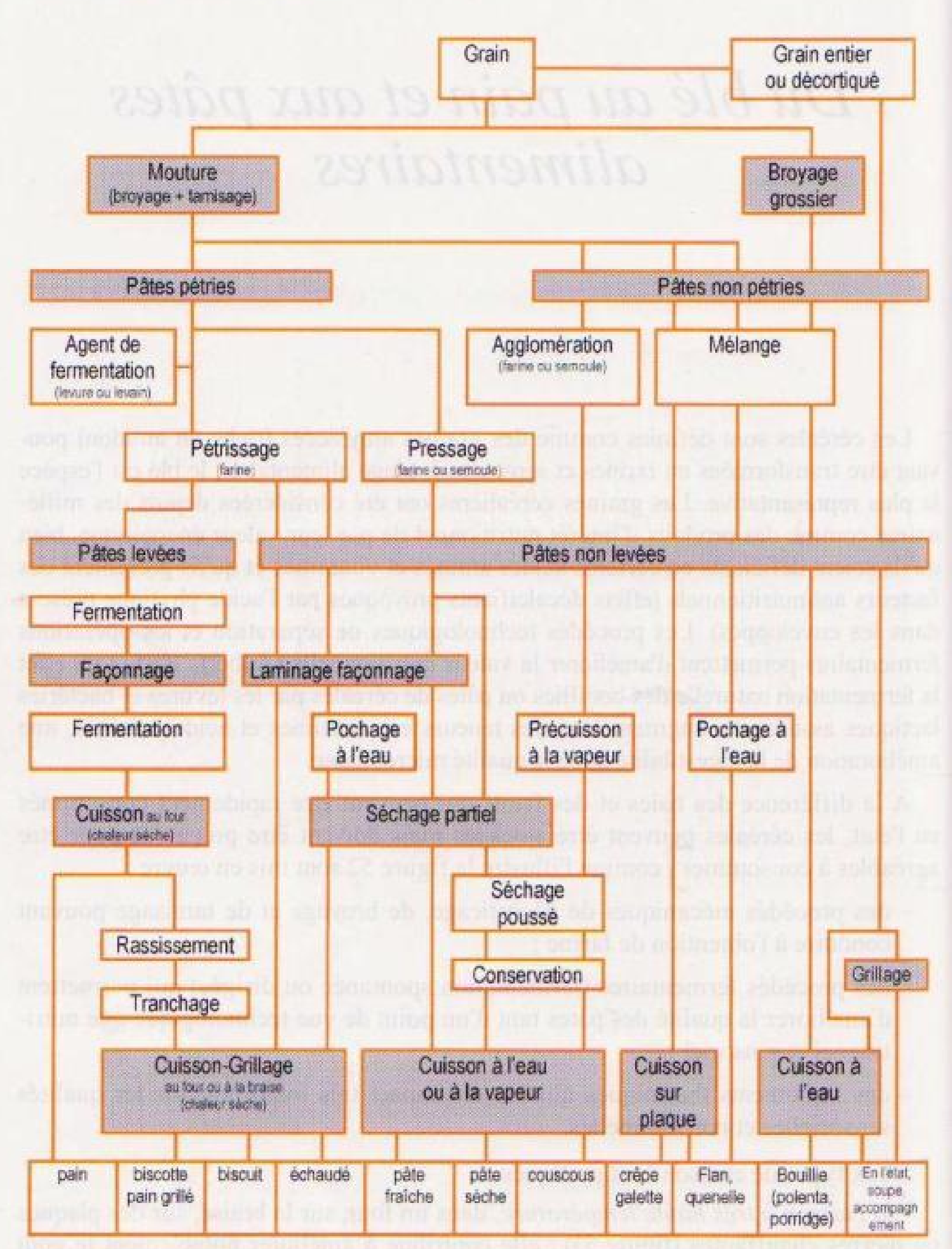


Figure 52 ■ Synoptique des modes traditionnels de transformation du blé.

Au fil des siècles, l'amélioration de l'appétence a résulté de la création et de la diversification des textures et des goûts. Les caractéristiques de tendreté, de friabilité ou de moelleux ont toujours été recherchées par le consommateur et ont

entraîné un soucis permanent d'amélioration de la qualité du produit frais et de sa conservation dans le temps (Maurisio, 1932).

La transformation des céréales peut également mettre en œuvre d'autres ingrédients et le qualificatif de produits céréaliers peut être attribué si la proportion de céréales reste importante. On distingue actuellement dans les filières céréales :

- les produits de première transformation céréalière : farines, semoules et grains décortiqués ou abrasés, flocons, malt ;
- les produits de deuxième transformation issus de la panification, la viennoiserie, la biscuiterie, la pâtisserie, la pastification, la crêperie, l'amidonnerie ou la brasserie.

Les industries de l'alimentation animale entrent aussi dans ces filières céréalières.

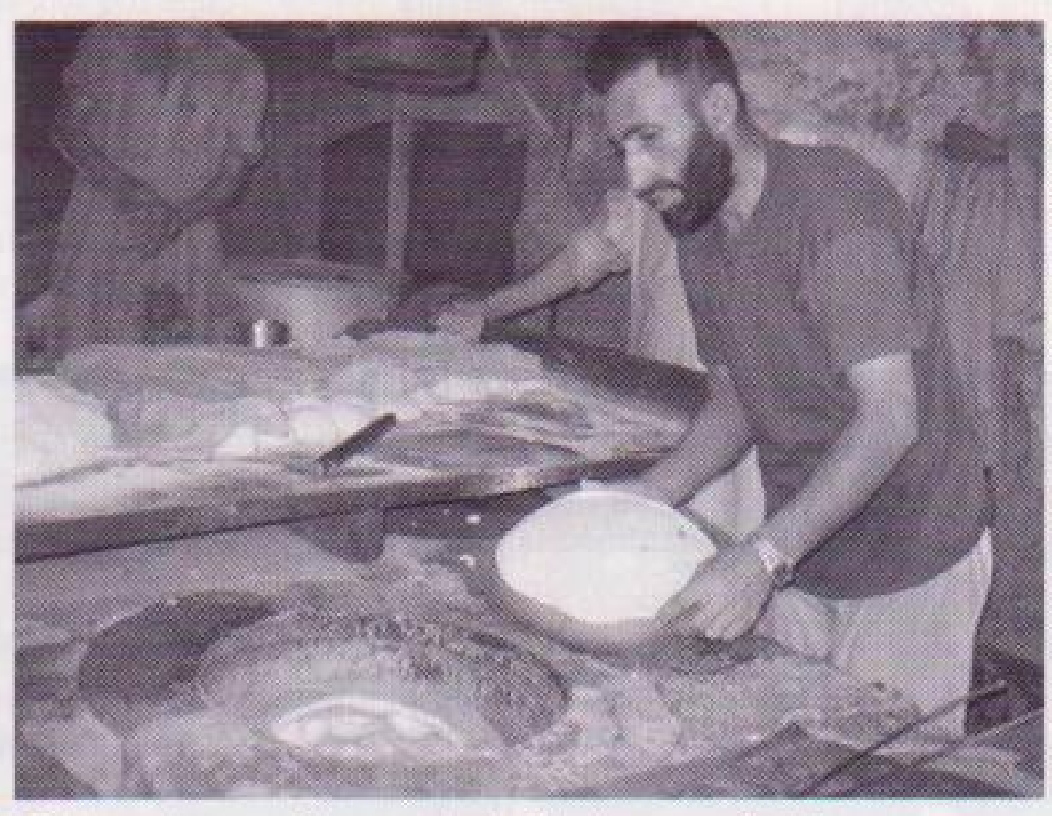


Figure 53 ■ Cuisson dans un four vertical « Tandur », au Pakistan.

1. *Biochimie et physico-chimie du blé*

1.1. Composition globale

Les principales familles botaniques associées aux céréales sont les suivantes :

- les *graminées* ou *poacées* : blés (tendres, durs, petits et grands épeautres), seigle, triticale, riz, orge, avoine, maïs, mils (gros mils ou sorgho, petit mil ou millet) ;
- les *polygonacées* : sarrasin ou blé noir ;
- les *chenopodiacées* : quinoa.

Ces grains ont des compositions voisines (tableau 22) ; classés dans les produits amylacés, ils se caractérisent par leur richesse en amidon, des taux de protéines moyens et des faibles teneurs en lipides.

Tableau 22 ■ Composition chimique des grains de céréales (%).

Espèces	Eau	Amidon et petits glucides	Protéines	Lipides	Fibres	Minéraux (taux de cendres)
Avoine	13-15	50-54	12-13	5,0-6,0	14-15	2,5-3,0
Blé tendre	13-15	64-68	10-12	1,7-1,9	5,0-5,5	1,7-1,9
Blé dur	13-15	62-66	13-14	1,8-2,0	5,0-5,5	1,8-2,0
Maïs	13-15	58-62	9-11	5,0-5,5	10-11	1,0-1,1
Orge	13-15	57-63	10-11	2,0-2,5	10-11	2,5-2,7
Riz (cargo)	13-15	70-72	7-8	1,8-2,4	2-3	1,0-1,5
Sarrasin	13-15	57-63	10-11	2,0-2,5	11-12	1,9-2,1
Seigle	13-15	62-66	9-11	1,7-1,8	7-8	1,9-2,1
Triticale	13-15	61-65	12-13	1,7-1,8	6-7	1,9-2,1
Quinoa	13-15	56-60	12-14	5,0-7,0	8-10	2,2-2,5

On distingue deux espèces de blé :

– le blé tendre dont le nombre de chromosomes est de 42 (21 paires). Son amande (albumen) est relativement friable et lui donne une bonne aptitude à la transformation en farine. Sa valorisation se fait dans les produits de boulangerie, pâtisserie, biscuiterie, crêperie, sauces, etc. ;

– le blé dur dont le nombre de chromosomes est de 28 (14 paires). Son amande, dure, le rend apte à donner des semoules pendant la mouture. Ces semoules sont valorisées dans la fabrication des pâtes alimentaires et des couscous. La production de farines est néanmoins possible même si les semoules sont plus grossières ou plus rondes (tableau 23). Une utilisation en panification est possible (pratique courante dans les pays méditerranéens).

Ces deux espèces possèdent des protéines aptes à former un gluten lorsque les farines ou semoules sont hydratées. Le gluten de blé tendre a comparativement une meilleure aptitude à la texturation des pâtes à pain. Chacune de ces espèces comprend des variétés dont les caractéristiques de composition, notamment des protéines, leur donnent une plus ou moins bonne aptitude à la panification (blé tendre) ou à la pastification (blé dur ; figure 54).

1.1.1. Caractéristiques histologiques du grain de blé

Le grain de blé est du point de vue botanique un fruit ou caryopse constitué d'une graine. Les enveloppes du fruit adhèrent presque en totalité aux enveloppes de la graine. Ce caractère indéhiscent est spécifique de ces fruits secs appelés akènes.

Tableau 23 ■ Principales caractéristiques physiques des grains de blé.

Caractéristiques	Blé dur	Blé tendre
Espèce	*Triticum durum*	*Triticum aestivum* ou *vulgare*
Poids spécifique (kg·hL^{-1}) Masse de mille grains	75-85 (souvent > 80) 25 à 60 g	70-80 35 à 50 g
Aspect (figure 3)	Allongée, sillon ouvert, enveloppes blanches, ambrées ; épis barbus	Forme ronde, peu allongée, sillon fermé, enveloppes rousses, épis peu barbus
Longueur	6 à 9 mm	5 à 8 mm
Largeur	2,5 à 4,0 mm	3 à 4 mm
Épaisseur	2,2 à 3,2 mm	2,5 à 3,5 mm
Caractéristique physique de l'amande	Vitreuse, résistante à l'écrasement	Farineuse, vitreuse, peu résistante à l'écrasement
Rendements mouture	Semoules : 70-75 % Issues : 18-22 % Gruaux D (farine) : 5-10 %	Farine : 75-80 % Sons : 12-15 % Remoulages : 5-7 %
Minéralisation de l'amande (% cendres)	≈ 0,70 %	≈ 0,30-0,35 %

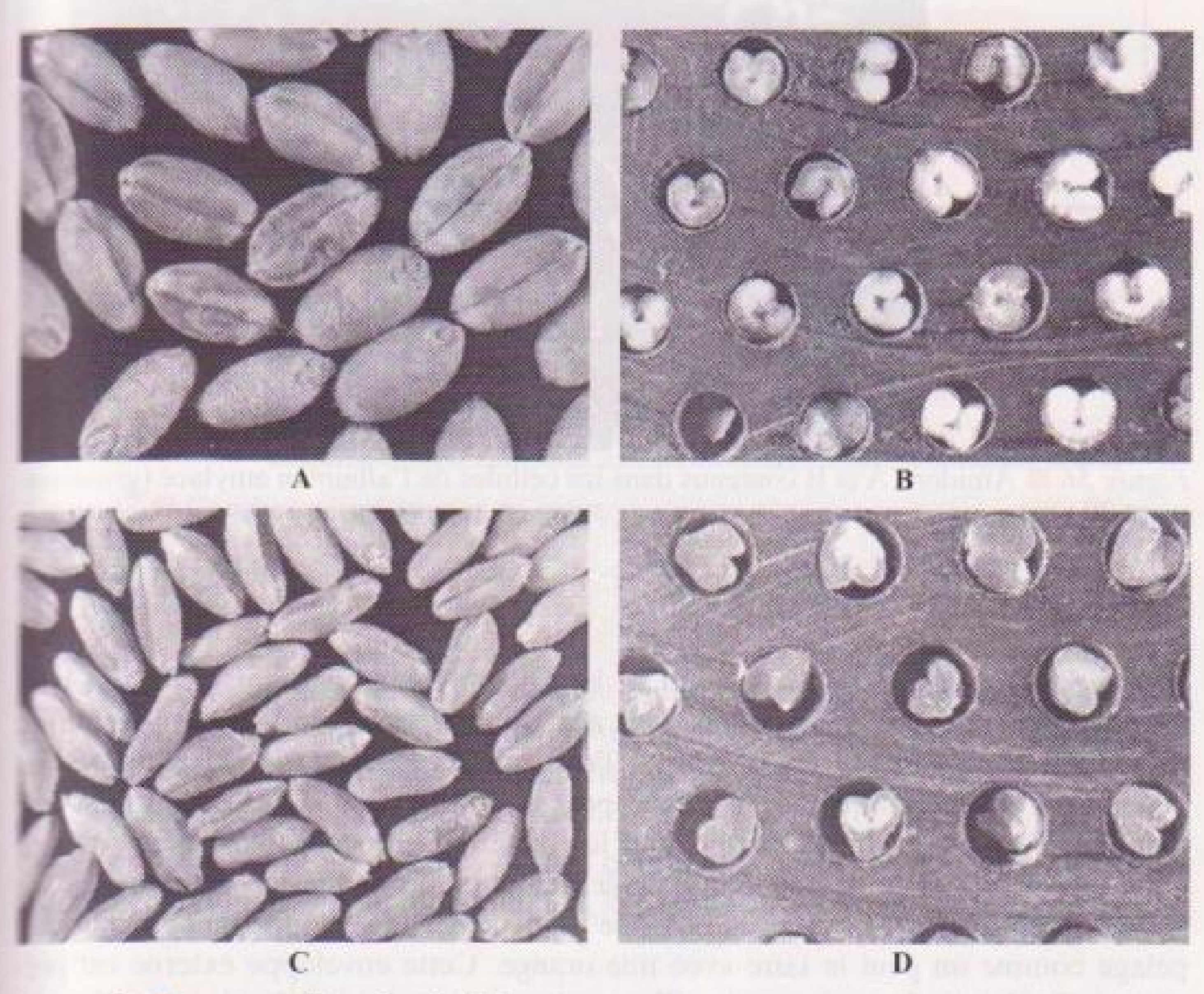


Figure 54 ■ Aspects de grains de blés.

A : grain entier de blé tendre ; B : farinotome (coupe) de grain de blé tendre ; C : grain entier de blé dur ; D : farinotome (coupe) de grain de blé dur.

1.1.2. Structure de l'albumen amylacé (amande)

L'albumen (82 % du grain) se présente sous forme de cellules longitudinales (figure 55) dans lesquelles sont contenus des granules d'amidons autour desquels apparaissent les filaments ou matrices protéiques dont l'épaisseur est de l'ordre du µm. On distingue (figure 56) des gros grains qualifiés d'amidon A (20-40 µm) et des petits grains ou amidons B (< 10 µm).



Figure 55 ■ Cellules longitudinales de l'albumen amylacé (grossissement 200 µm).

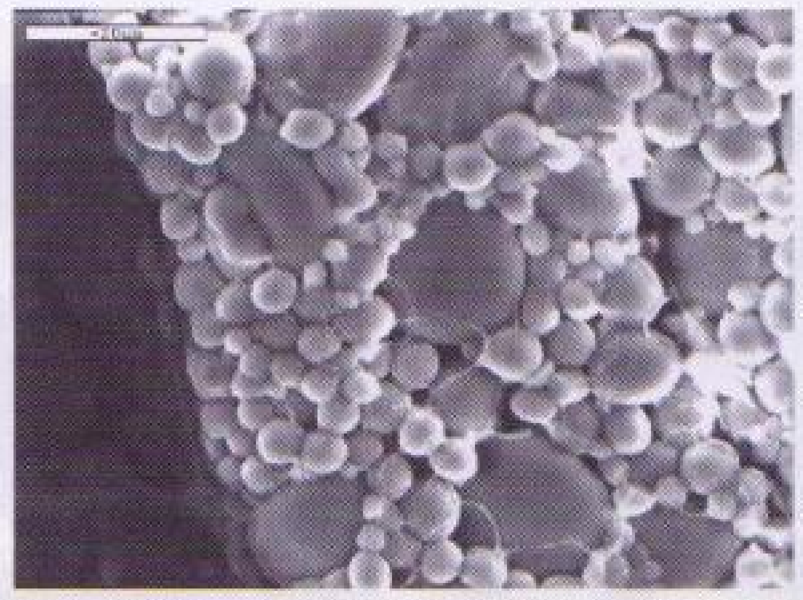


Figure 56 ■ Amidons A et B contenus dans les cellules de l'albumen amylacé (grossissement 20 µm).

1.1.3. Structure des enveloppes

Les enveloppes (13-15 % du grain de blé) comprennent à la fois celles du fruit en périphérie et celles de la graine, liées aux premières (figure 57). Les techniques de réduction ne peuvent les séparer, à l'exception du péricarpe externe que l'on décolle par des techniques de friction après humidification. Elles constituent une membrane souple et dure à briser dont les différentes couches sont bien soudées entre elles ; l'assise protéique assure également une forte adhésion de l'amande sur les enveloppes. Il n'est donc pas possible de détacher l'enveloppe de l'amande par pelage comme on peut le faire avec une orange. Cette enveloppe externe est présente à l'intérieur du grain sur le sillon rentrant, ce qui empêche de travailler par abrasion comme dans le cas du riz, si l'on veut enlever totalement l'enveloppe du grain.

Le péricarpe (4 % du grain) et le tégument séminal (2 % du grain) sont constitués en forte proportion de cellulose et d'éléments minéraux ; l'assise protéique (7 à 9 % du grain) se caractérise par sa teneur élevée en protéines, lipides, vitamines et éléments minéraux. Cette carapace externe du grain, riche en éléments nutritionnels, n'est que faiblement incorporée aux farines blanches après mouture sur cylindres : elle forme le « son ».

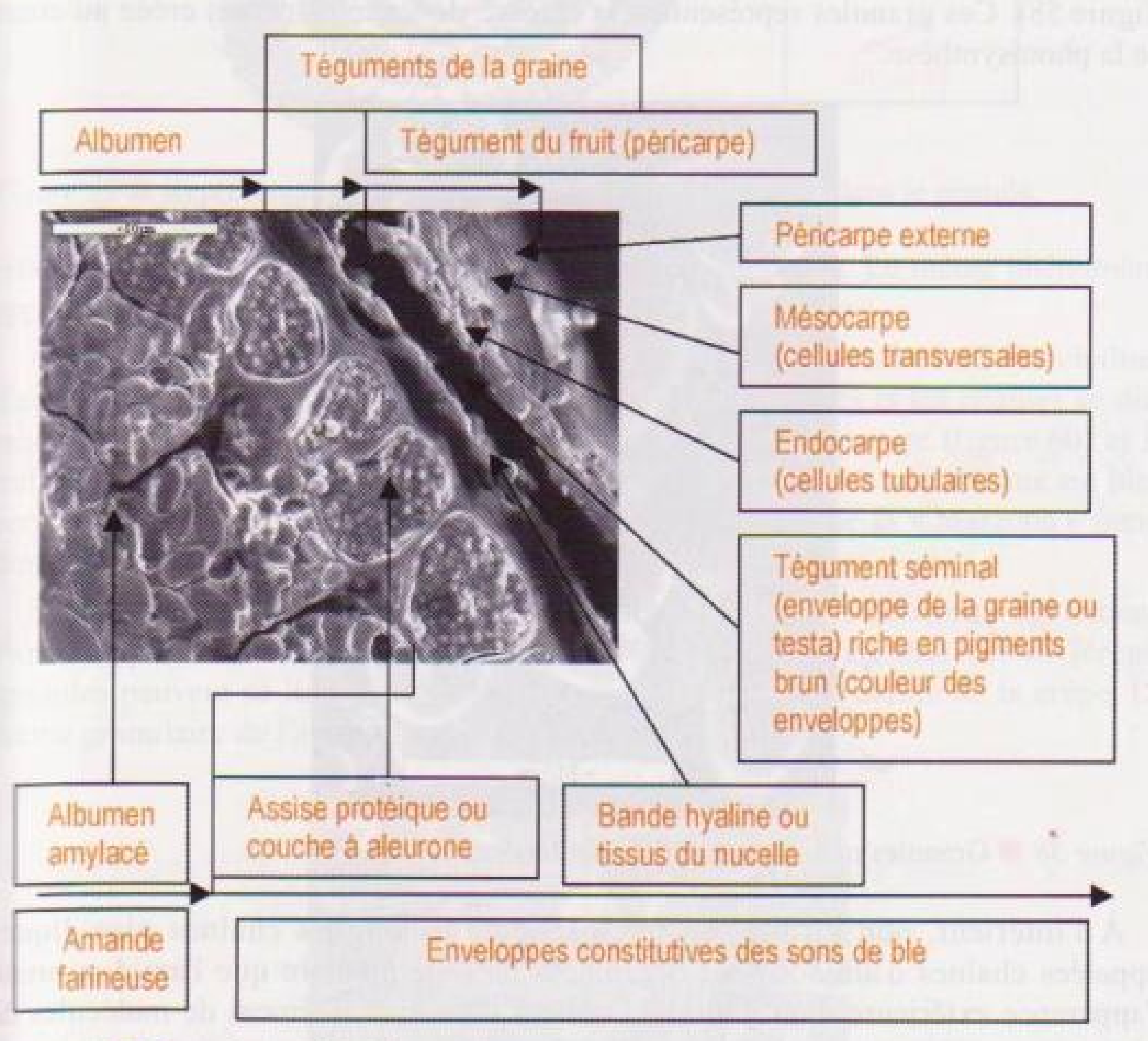


Figure 57 ■ Couches périphériques du grain.

1.1.4. Structure du germe

Il représente environ 3 % du grain de blé, contient une proportion élevée de lipides, protéines, vitamines et éléments minéraux sans oublier les fortes activités enzymatiques. Il est formé de deux parties principales, l'embryon et le scutellum situé à l'interface avec l'albumen amylacé.

Le germe est éliminé dans les farines courantes par les techniques actuelles de mouture sur cylindres et se retrouve dans les issues (sons et remoulages).

1.2. Structure et propriétés des constituants

1.2.1. Glucides

1.2.1.1. Amidon

L'amidon de blé se présente au microscope sous forme de granules de 10 à 40 µm (figure 58). Ces granules représentent la réserve de sucre (glucose) créée au cours de la photosynthèse.

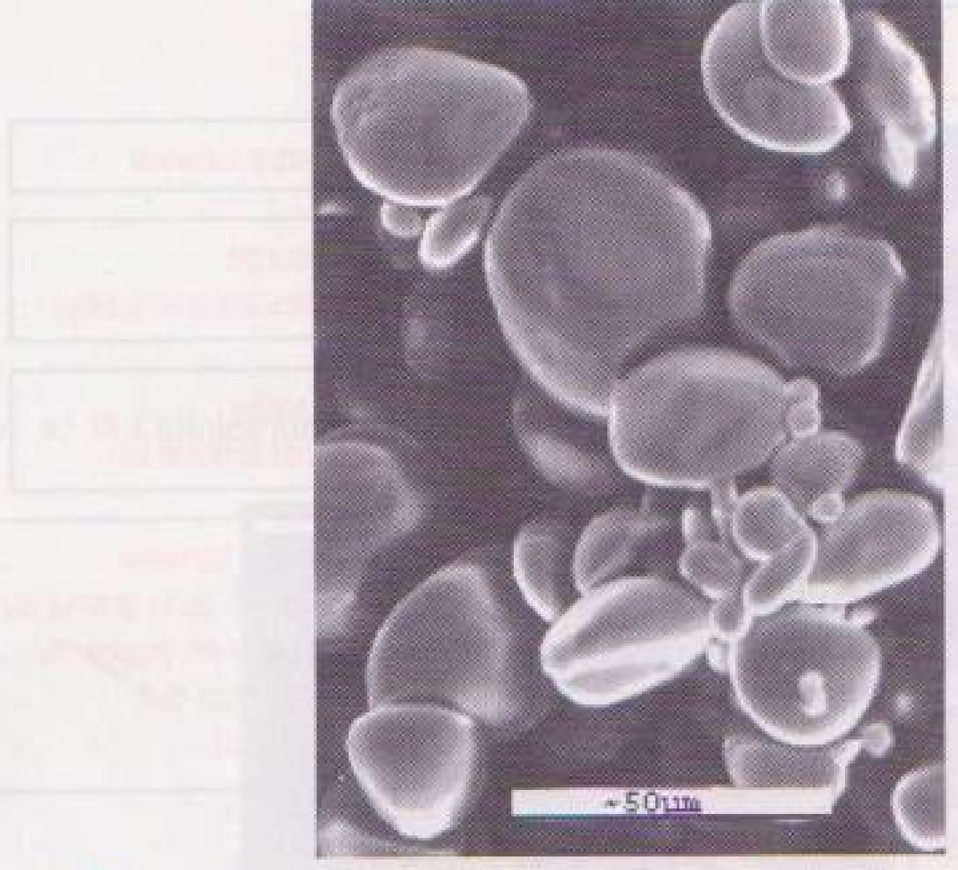


Figure 58 ■ Granules natifs d'amidon de blé tendre.

À l'intérieur, non visibles en microscopie, de longues chaînes glucidiques appelées chaînes d'amidon sont organisées de telle manière que l'amidon prend l'apparence extérieure d'un granule. Formées d'un enchaînement de molécules de glucose associées par des liaisons α 1-4, leurs dimensions peuvent atteindre quelques centaines d'unités glucose. Ces chaînes peuvent être linéaires, *l'amylose*, de 100 à 300 unités glucose, représentant environ 27 % de l'amidon total ou ramifiées, *l'amylopectine*, de 1 000 à 5 000 unités glucose, pour une proportion de 73 %. La ramification se crée entre le carbone 6 d'une molécule de glucose et le carbone 1 d'une autre molécule (liaisons α 1-6).

Dans le granule, les chaînes d'amylose sont associées de manière régulière sous forme cristalline, diminuant de ce fait leur affinité pour l'eau. Dans le cas de l'amylopectine, les zones ramifiées sont dites amorphes car non cristallines et accessibles à l'eau et aux enzymes, alors que les zones linéaires se présentent sous forme de structures cristallines qui peuvent être identifiées lorsque l'on passe les granules aux rayons X ; on met ainsi en évidence que la périphérie de l'amidon est de nature cristalline (figure 59). Avec cette spécificité, le granule peut difficilement s'hydrater.

De ce fait, à des températures froides et tièdes, l'eau ne pénètre que très partiellement ; le granule d'amidon restant plus dense que l'eau se dépose au fond d'un

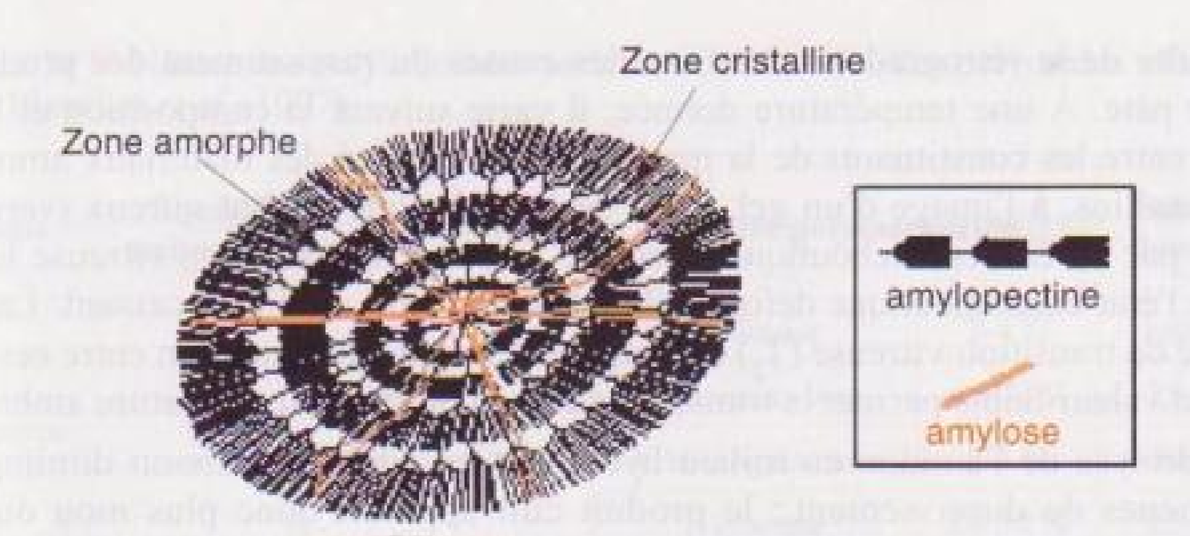


Figure 59 ■ Représentation schématique des chaînes d'amidon dans le granule.

récipient lorsqu'on laisse reposer un mélange après agitation. Le même phénomène apparaît lors de la préparation d'une pâte à crêpe.

À partir des températures de 55-60 °C, les liaisons fortes entre les chaînes d'amidon impliquées dans la forme cristalline sont dissociées et les chaînes se distendent ; l'eau peut alors pénétrer, et le granule gonfle et s'ouvre (figure 60) et le milieu s'épaissit : on dit que l'amidon gélatinise (figure 61). Ce mécanisme est bien connu lorsque l'on prépare une sauce avec de la farine ou de la « Maïzena » (amidon de maïs).

Pendant la cuisson (pain, pâtisserie ou crêpes), l'amidon gélatinise également. Par exemple, la pâte à crêpes, s'épaissit et les chaînes d'amidon des différents granules peuvent se lier assurant ainsi la continuité de la structure de la crêpe. La forme granulaire de l'amidon a disparu.

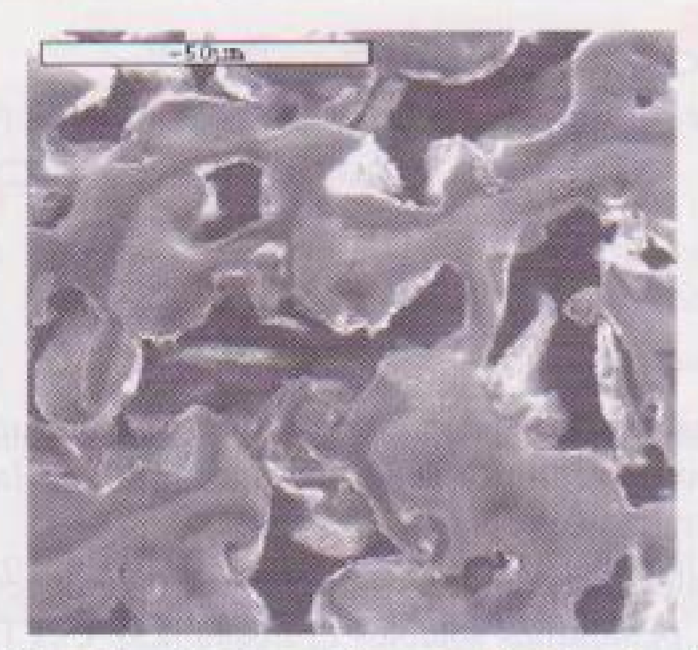


Figure 60 ■ Granules d'amidon de blé en début de gélatinisation à 60 °C.

Après gélatinisation et au cours du refroidissement, on observe un raffermissement et la rigidification de l'amidon qui conduit à la formation d'un gel continu.

L'amylose ainsi que certaines zones de l'amylopectine ont tendance à recristalliser. Ce phénomène de rétrogradation qui redonne partiellement un état cristallin, s'accompagne d'une expulsion d'eau. La recristallisation partielle de l'amylopectine lui permet malgré tout de conserver un pouvoir de rétention d'eau. Le durcissement

qui résulte de la rétrogradation est une des causes du rassissement des produits à base de pâte. À une température donnée, il varie suivant la composition et l'interaction entre les constituants de la matière. Cette rigidité des matériaux amorphes non cristallins, à l'image d'un gel, varie de l'état liquide à l'état vitreux (verre) en passant par un état caoutchoutique élastique. On appelle transition vitreuse le passage de l'état caoutchoutique déformable à l'état vitreux ou dur et cassant. La température de transition vitreuse (T_g) correspond à la zone de transition entre ces deux états ; sa valeur faible permet la transformation du produit à température ambiante.

L'hydrolyse de l'amidon en milieu hydraté et en cours de cuisson diminue ces phénomènes de durcissement ; le produit cuit apparaît donc plus mou ou plus moelleux.

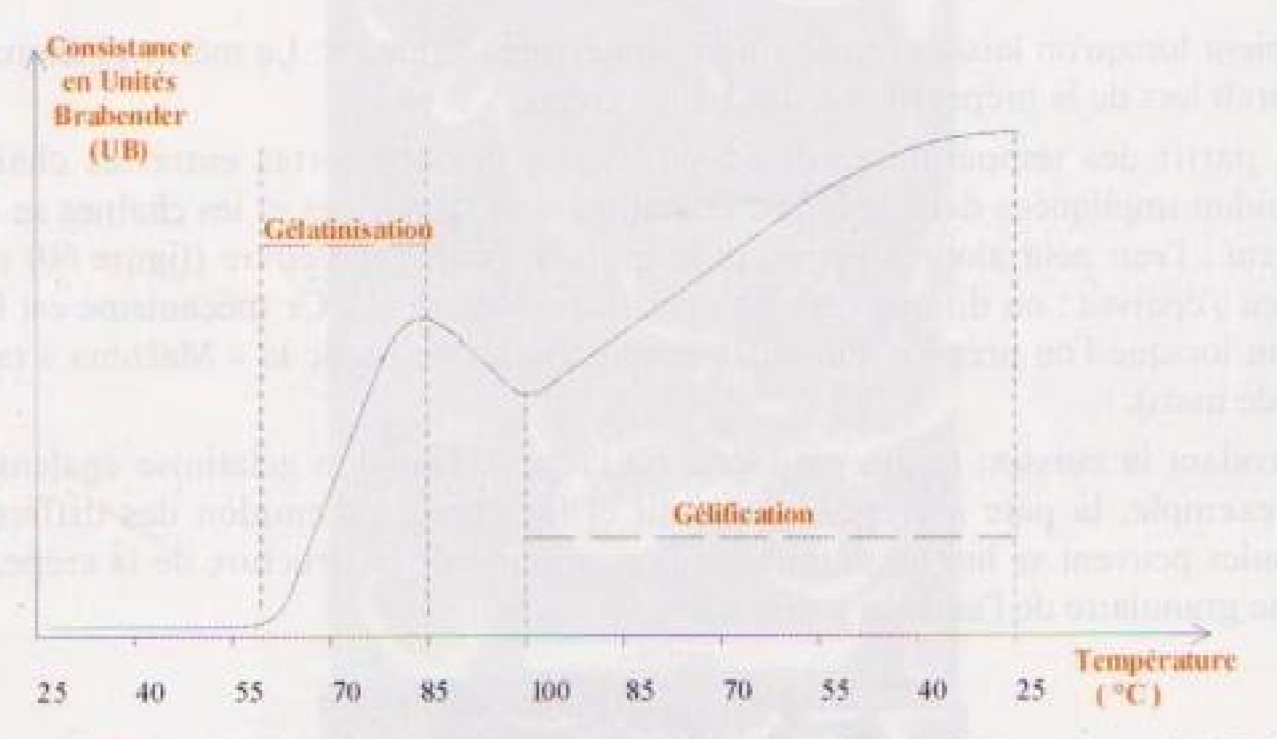


Figure 61 ■ Courbe de gélatinisation et de gélification obtenue à l'amylographe Brabender.

1.2.1.2. *Fibres*

Les fibres sont constituées de deux grandes familles, à structure cristalline insolubles dans l'eau ou non cristallines ; elles ont une aptitude à la solubilisation variable suivant la configuration des chaînes.

Les fibres des céréales sont composées de chaînes glucidiques (polyosides) de type cellulose (β-glucanes, pentosanes solubles et insolubles). Ces fibres (tableau 24) ont comme caractéristiques communes d'être indigestibles par l'homme.

Pour une farine de blé type 55, le pourcentage total de fibres est compris généralement entre 2 et 3 %, soit de 1 à 2 % des pentosanes totaux.

La cellulose est formée d'un enchaînement de molécules de β D-glucose (jusqu'à 10 000 unités), associées par des liaisons β 1-4. Les fibres de cellulose forment entre elles des structures cristallines insolubles présentant peu d'affinité pour l'eau. Par ailleurs, ces structures sont résistantes à l'attaque enzymatique, aux acides et aux déformations physiques.

Tableau 24 ■ Nature des polyholosides pariétaux du blé en % des polyosides totaux de la paroi (Planchot *et al.*, 1997).

Tissus	Équivalent technologique	% du tissu	Nature polysaccharide		Solubilité dans l'eau
Albumen	Farine	2-7 %	Cellulose	2-4 %	Insoluble
			Arabinoxylane	64-70 %	25-30 %
			Arabinogalactane	2-3 %	Soluble
			β glucane	20-30 %	25-35 %
Péricarpe	Sons	70-80 %	Hétéroxylane	60-65 %	Insoluble
			Cellulose	25-30 %	Insoluble
			Lignine	10-15 %	Insoluble

Les β-glucanes, polyholosides constitués de chaînes linéaires de glucose (β D-glucopyranose), sont reliés par des liaisons 1-3 ou 1-4 (Grosjean et Barrier-Guillot, 1996).

Les pentosanes, chaînes glucidiques, sont formés principalement de sucres en C5 (pentoses). Les associations arabinose-xylose (arabinoxylanes) (figure 62) et arabinose-galactose (arabinogalactanes) sont les plus fréquemment rencontrées parmi les pentosanes des céréales et du blé (tableau 24). Les chaînes de pentoses associées à des hexoses, sont qualifiées d'hémicelluloses.



Figure 62 ■ Représentation simplifiée d'une chaîne d'arabinoxylane.

On distingue les pentosanes solubles dans l'eau, souvent appelés gommes ou mucilages, des pentosanes insolubles ou hémicelluloses. De nombreux auteurs s'accordent pour dire que la fraction soluble améliore les résultats en boulangerie. Les pentosanes de l'amande du grain, issus principalement des cellules de l'albumen, sont plus solubles que les pentosanes du péricarpe ou enveloppes. Quel que soit leur degré de solubilité, les pentosanes dépourvus de structure cristalline adsorbent facilement l'eau à chaud et à froid contrairement à la cellulose. Leur capacité d'hydratation varie entre 6 et 10 fois leur poids en eau. Ils possèdent donc des propriétés épaississantes et contribuent également à donner des gels assez résistants. Si ces fractions sont en faibles proportions dans les farines de céréales (2 à 6 %), elles permettent d'expliquer 25 à 30 % de l'hydratation des pâtes à base de farine

de blé et plus avec la farine de seigle. Les caractéristiques visqueuses de ces gels interviennent sur la tenue, l'extensibilité et l'aptitude au développement des pâtes en stabilisant les alvéoles gazeuses.

Les hémicelluloses, principalement des arabinoxylanes, s'associent à d'autres glucides, des protéines ou l'acide férulique ; ce dernier intervient dans les réactions d'oxydation entre les chaînes glucidiques (Petrich-Murray et Ducroo, 1996) et les protéines, et contribue à l'augmentation de la stabilité et de la consistance des pâtes par gélification. Selon Renard et Théry (1998), les pentosanes constituent une fraction biochimique qui joue un rôle significatif dans les paramètres alvéographiques P et G (figure 76), davantage par leur structure (taux de branchement arabinose/xylose) que par leur teneur (solubles ou totaux). Il existe une variabilité de composition en fonction des variétés de blé et des conditions agroclimatiques (Rouau, 1996). Le pourcentage d'acide férulique, la masse moléculaire des pentosanes sont des variables qui influent sur l'augmentation de viscosité.

1.2.1.3. Sucres simples

Il s'agit des hexoses, des pentoses et des oligosides. À la différence de l'amidon et des fibres, ces sucres sont solubles dans l'alcool. Dans la farine, les sucres préexistants sont composés de glucose, de fructose, de saccharose, de maltose et de petites chaînes de pentose ou de glucose. Ils représentent environ 1,5 à 2 % de la farine par rapport à la matière sèche. Ces constituants sont assimilés aux sucres fermentescibles, rapidement utilisés par la levure en début de fermentation, avant l'hydrolyse de l'amidon par les amylases. Leur pouvoir structurant est faible ; leur présence en grande quantité, notamment lorsque le blé a commencé à germer avant d'être récolté, donne en panification des pâtes collantes difficiles à travailler.

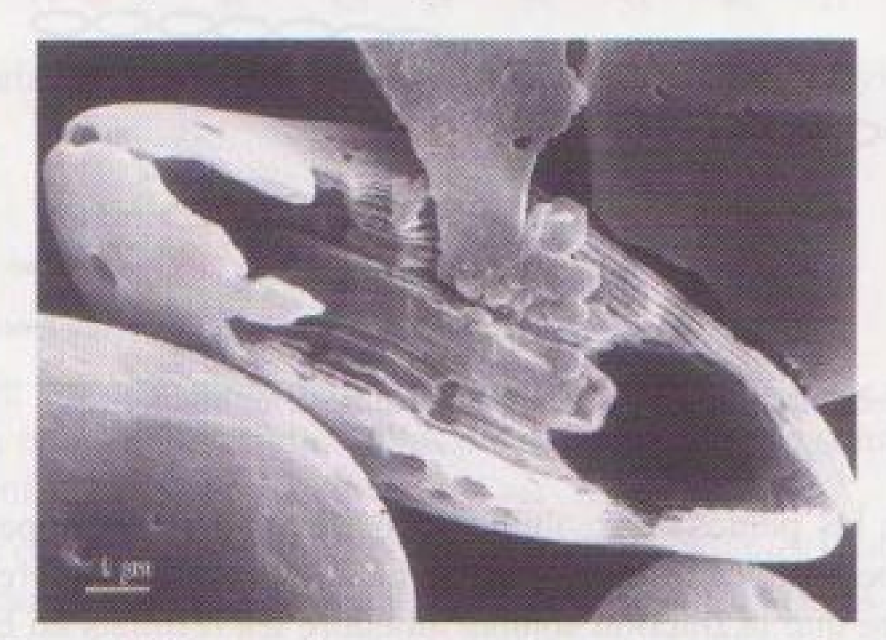


Figure 63 ■ Amidons de blé attaqués par les amylases (enzymes). Cette attaque enzymatique coupe les chaînes permettant ainsi la séparation des molécules de glucose.

1.2.2. Protéines

Le blé possède des protéines dont la composition en acides aminés et la structure leur confèrent des propriétés fonctionnelles différentes de celles des autres céréales ; leur pouvoir moussant s'exprime lors du pétrissage de la pâte, au cours duquel

les protéines favorisent la formation de structures tridimensionnelles très rigides tout en étant aptes à retenir un gaz, permettant ainsi la fabrication du pain ; les protéines contribuent ainsi à la cohésion de la pâte, mais également à la formation et à la stabilisation de ses alvéoles. Dans le cas des autres céréales la structure de nature protéique est beaucoup plus fragile et moins résistante.

1.2.2.1. *Caractérisation des protéines du blé*

Les protéines de la farine de blé sont multiples et complexes. Certaines d'entre elles, insolubles dans l'eau (gliadines, gluténines), s'associent en milieu hydraté pour former le gluten. L'agglutination de protéines confère au produit des propriétés visqueuses et élastiques : il peut alors s'étendre pour former une membrane capable de retenir les gaz de fermentation lors de la panification. Cette spécificité des protéines du blé lui donne le qualificatif de panifiable, c'est-à-dire apte à produire des pains à structure alvéolaire aérée.

Traditionnellement, les protéines sont classées selon leurs caractéristiques de solubilité. Dès 1907, Osborne propose une classification des protéines du blé en quatre types : les albumines, les globulines, les gliadines, gluténines.

• Les *albumines* (5 à 10 % des protéines totales du blé) sont globulaires et solubles dans l'eau. Elles sont essentiellement concentrées dans la périphérie du grain et dans le germe.

• Les *globulines* (5 à 10 % des protéines totales du blé) sont globulaires et solubles dans les solutions salines diluées. Elles se concentrent comme les albumines dans les parties périphériques de la graine.

• Les *gliadines* (40 à 50 % des protéines totales du blé) sont solubles dans les solutions alcooliques. Elles se concentrent surtout dans l'amande ou endosperme du grain de blé. On les retrouve dans le gluten, auquel elles apportent des caractéristiques visqueuses (fluidité, extensibilité). Leur poids moléculaire varie de $3{,}5 \cdot 10^4$ à $9 \cdot 10^4$ Da.

• Les *gluténines* (30 à 40 % des protéines totales du blé) sont solubles dans les solutions d'acides ou d'alcalis. Elles confèrent au gluten ses caractéristiques élastiques, sa cohésion et sa résistance aux déformations. Leur poids moléculaire peut varier de 10^5 à $3 \cdot 10^6$ Da. Comme les gliadines, on les trouve principalement dans l'albumen du grain.

Les protéines du blé sont caractérisées tant d'un point de vue quantitatif que qualitatif par des méthodes chromatographiques (gel perméation), qui permettent de séparer les agrégats gluténiques de hauts poids moléculaires des gliadines de plus faibles poids moléculaires, et par des méthodes électrophorétiques (figure 64).

À cette classification, s'ajoute une famille de protéines très riches en soufre, identifiée dans les albumines-globulines, parmi lesquelles se distinguent les friabilines (présentes dans les blés soft) et les puro-indolines a et b, aux propriétés tensioactives déterminantes dans la structure alvéolaire des pâtes.

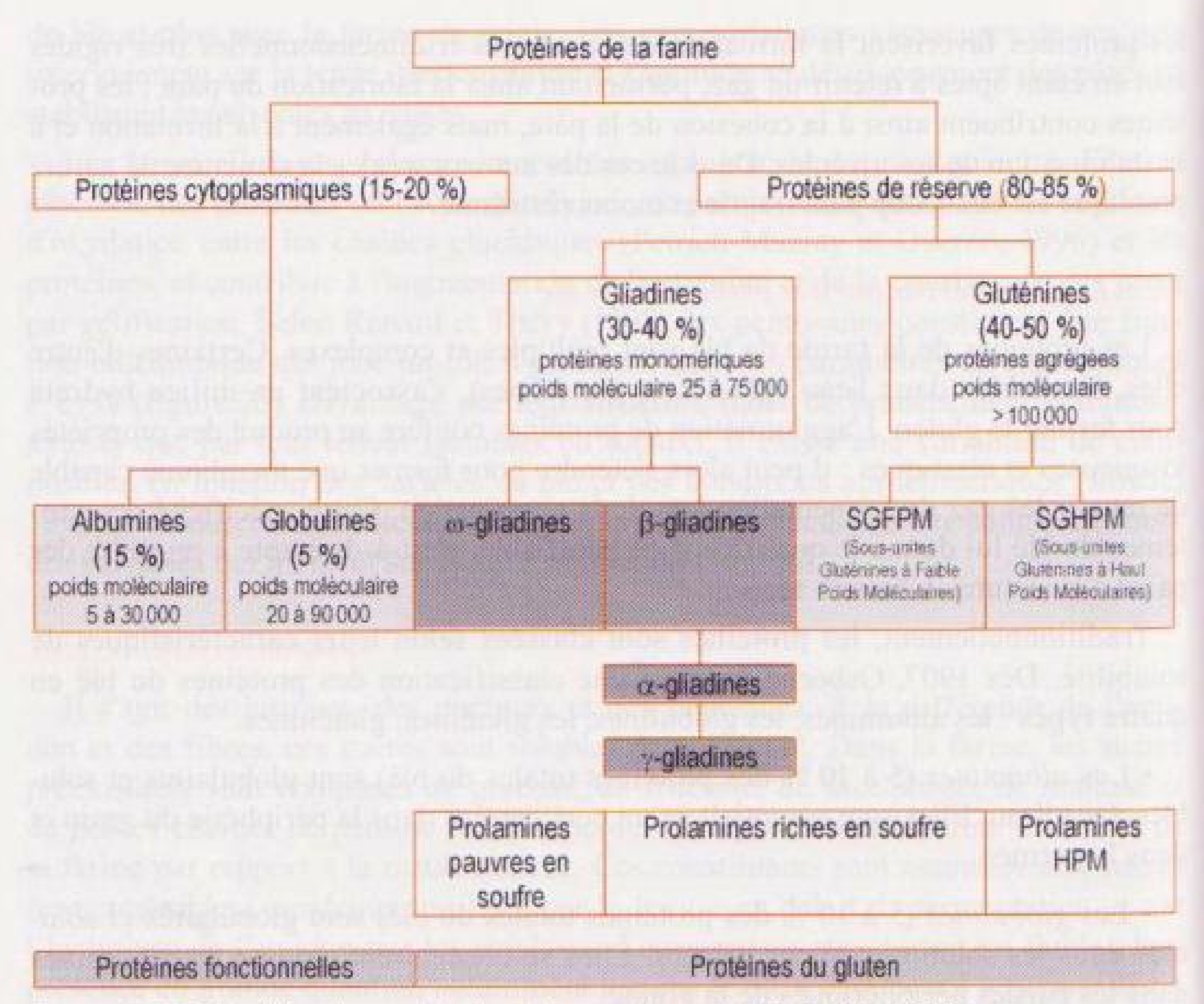


Figure 64 ■ Classification qualitative des protéines du blé (Feillet, 2000).

1.2.3. Lipides

Les lipides sont principalement sous forme de triglycérides ; ils sont présents en faibles quantités dans les céréales, et ne jouent pas de rôle technologique majeur ; toutefois les interactions des lipides endogènes avec les protéines notamment modifient les propriétés fonctionnelles du gluten et contribuent à la régularité des structures alvéolaires.

Les lipides de réserve (triglycérides, mono- et diglycérides, acides gras libres) représentent la fraction majoritaire des lipides (tableau 25). Les acides gras qui les composent sont des acides gras à chaînes longues, majoritairement insaturés, intéressants du point de vue nutritionnel mais également très sensibles à l'oxydation. Les lipides de structure (principalement des glycolipides et phospholipides) interviennent dans les interactions lipides-protéines-glucides et assurent notamment la formation de complexes lipoprotéiques. Leurs propriétés tensioactives leur permettent de jouer un rôle positif dans la stabilité des inclusions d'air et dans la rétention gazeuse.

La concentration en matière grasse est plus importante dans le germe que dans la couche à aleurone, l'albumen et le péricarpe. Ceci se traduit par une augmentation de la teneur en matières grasses avec le taux d'extraction du blé en farine (tableau 26). Son dosage est donc un indicateur du taux d'extraction, mais aussi des risques de mauvaise conservation de la farine.

Tableau 25 ■ Composition en fractions lipidiques du blé (Drapron et Genot, 1979).

		Lipides neutres (apolaires)	Glycolipides	Phospholipides	Insaponifiables
Fractions lipidiques		**70**	**19,5**	**10**	**5,5**
Acides gras (% par rapport au total des lipides neutres)	C16	17-24			
	C16:1	1-2			
	C18	1-2			
	C18:1	8-21			
	C18:2	55-60			
	C18:3	3-5			

Tableau 26 ■ Proportion de matières grasses (%) dans différents produits de mouture.

	Farine T45	Farine T55	Farine 65	Remoulages	Germe	Blé broyé
Matières grasses	1,2-1,4	1,4-1,7	1,8-2,0	3-5	10-15	2,2-2,8

Au cours du stockage, une partie des glycérides est hydrolysée par les lipases avec libération d'acides gras (rancissement hydrolytique) qui sont sensibles aux phénomènes oxydatifs. D'autre part, l'hydrolyse des lipides liés en partie aux protéines du gluten rend celui-ci plus cassant, plus élastique et conduit à une perte de ses propriétés de rétention gazeuse au cours de la fermentation des pâtes. Les risques d'hydrolyse augmentent :

- si l'activité lipasique est plus élevée (plus forte dans les parties périphériques du grain et dans le germe) ;
- si la température croît (activités enzymatiques accélérées) ;
- si la teneur en eau est plus importante (élément nécessaire dans la réaction).

Le dosage des acides gras libres est pertinent pour apprécier l'état de conservation des farines, leur « vieillissement ».

2. Bases biologiques et physico-chimiques de la transformation du blé

La transformation du blé a pour objectif principal de le rendre plus apte (aspects nutritionnels, sécurité alimentaire, praticité, etc.) et plus agréable à la consommation humaine tout en assurant une aptitude à la conservation. Nous nous attacherons

à développer les principes de la transformation assurant une modification et une amélioration des propriétés sensorielles à la base de la transformation des produits céréaliers. Comme cela a été indiqué précédemment, le grain entier, dur et compact, est difficilement consommable ; la diminution de la résistance de la texture passe par une cuisson dans l'eau qui conduit à la gélatinisation de l'amidon.

Avec un grain transformé en farine ou en semoule, la préparation d'une pâte est nécessaire pour donner de la cohésion à la matière et des mises en forme mieux adaptées à la consommation. La mise en pâtes conduit généralement à rechercher des niveaux de consistance (propriétés visqueuses) assez élevés plus propices à la création de formes différentes, même si la fabrication de pâte liquide existe.

La cuisson directe au four ou sur plaque chauffante de ces pâtes ne peut que renforcer, par dessiccation, la résistance des produits. Seule une cuisson dans l'eau chaude (pâtes alimentaires et couscous) peut réduire ce paramètre, sans pour autant contribuer à l'amélioration du goût. Pour élaborer un produit offrant à la fois une texture agréable à la consommation (critères de friabilité et de moelleux) et un goût résultant du développement aromatique de la cuisson dans un four, il faut diminuer le niveau de résistance des produits cuits. Pour répondre à ces objectifs, diverses approches technologiques sont envisageables (figure 65) :

- diminution de l'épaisseur de la pâte (crêpes, galettes, corn-flakes, etc.) ;
- rupture de la continuité de structure par incorporation de matière grasse (biscuits, produits feuilletés) ;
- division de la structure continue de la pâte par de l'air (pâtes boulangères ou pâtissières) ou de la matière grasse (feuilletage).

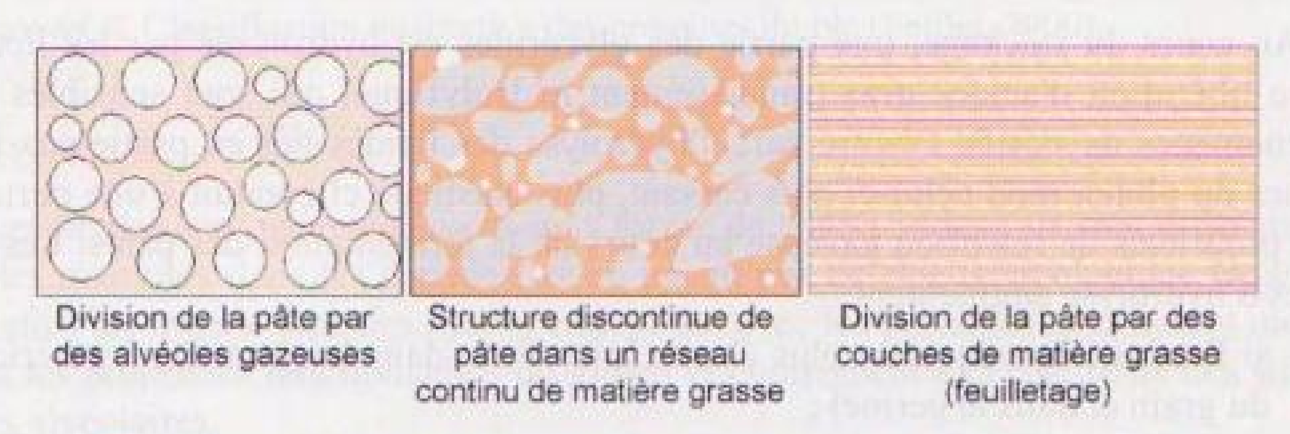


Figure 65 ■ Différentes structures pour réduire la résistance des pâtes de farine.

Les deux produits pris en référence dans ce chapitre sont le pain (pâtes levées ou expansées) et les pâtes alimentaires (pâtes non levées). Le pain est un aliment obtenu par cuisson au four d'une pâte pétrie, mise en forme et fermentée, composée essentiellement de farine (blé ou seigle), d'eau, de sel et d'un agent de fermentation (levure ou levain). Les pâtes alimentaires sont également issues d'un mélange pétri ou malaxé, de semoules et d'eau, mis en forme et stabilisé par séchage (pâtes sèches) ; elles ne subissent pas d'expansion, exceptée, de manière très limitée, dans la cuisson finale dans l'eau par la gélatinisation de l'amidon.

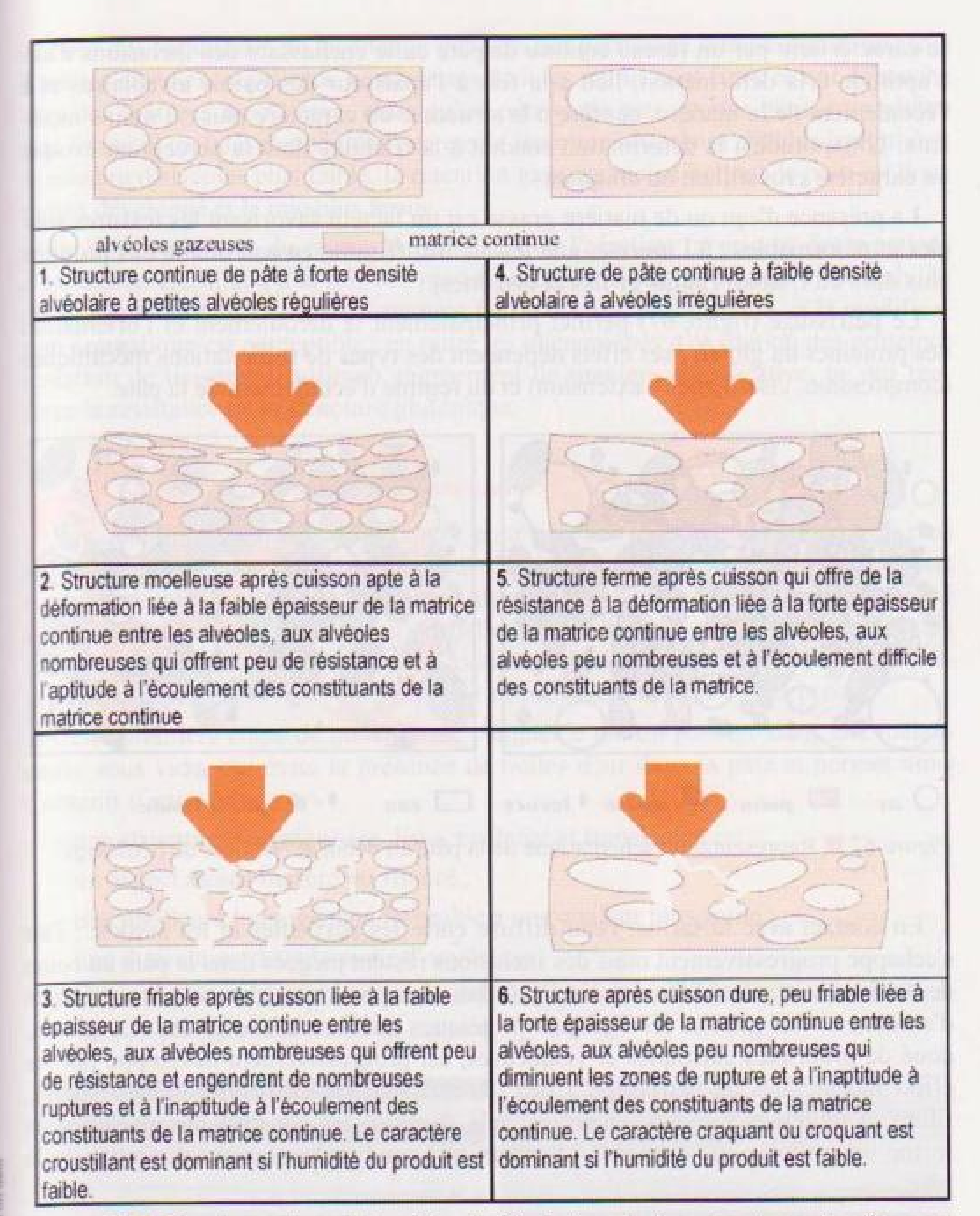


Figure 66 ■ Représentation schématisée de l'évolution de deux structures de pâte avant (1, 4) et après cuisson (2, 3, 5 et 6).

2.1. Élaboration de la texture

2.1.1. Structuration des pâtes boulangères

La structure des pâtes est conditionnée principalement par le type et la qualité de la texture que l'on souhaite obtenir ; elle préfigure en règle générale ces caractéristiques après cuisson (figure 66). Les textures moelleuses, croustillantes et craquantes

se caractérisent par un réseau continu de pâte cuite enchassant des inclusions d'air. L'aptitude à la déformation, liée à la fois à l'épaisseur des parois alvéolaires et à l'écoulement de la matière, confère à la structure un caractère plus ou moins moelleux. L'inaptitude à la déformation conduit à la friabilité dont la perception évoque un caractère croustillant ou craquant.

La présence d'eau ou de matière grasse est un facteur favorisant les textures souples et déformables ; à l'inverse, une teneur insuffisante en eau donne des produits plus durs ou friables (pains grillés et biscottes).

Le pétrissage (figure 67) permet principalement le déroulement et l'orientation des protéines du gluten ; ses effets dépendent des types de sollicitations mécaniques (compression, cisaillement, extension) et du régime d'écoulement de la pâte.

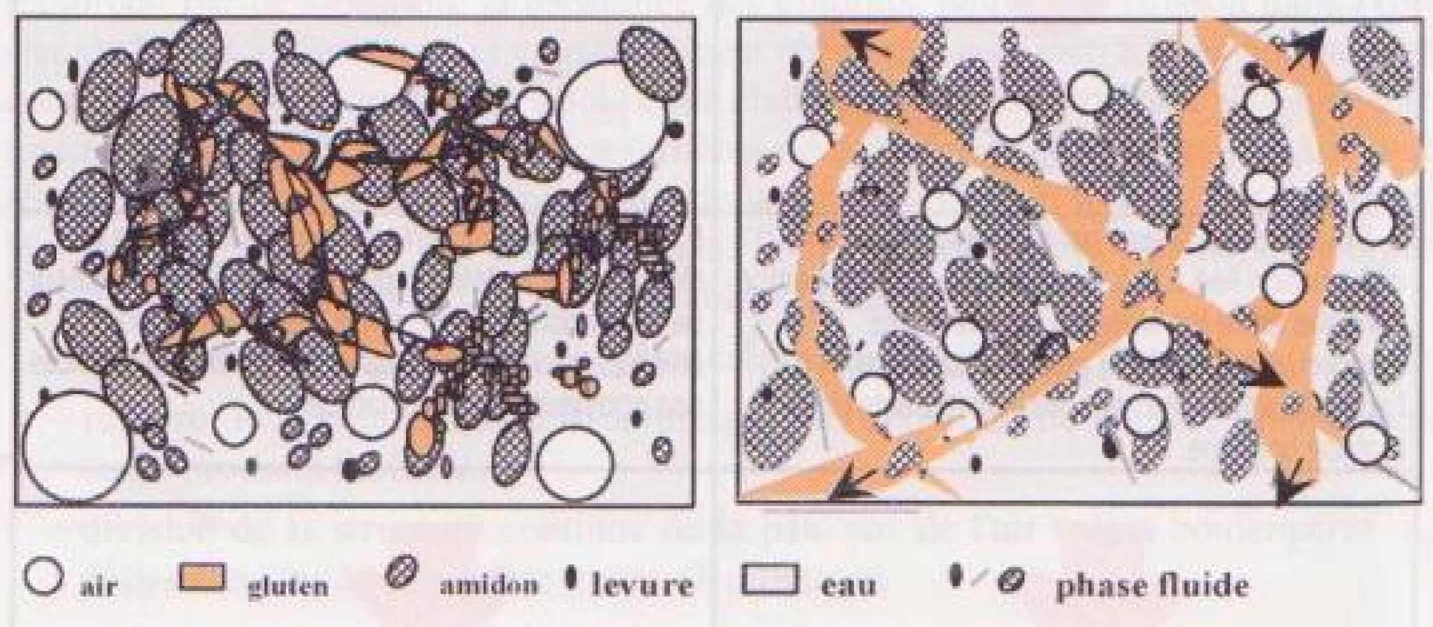


Figure 67 ■ Représentation schématique de la pâte en début et en cours de pétrissage.

En contact avec la farine, l'eau diffuse entre les particules et les associe ; l'air s'échappe progressivement mais des inclusions restent piégées dans la pâte au cours de sa formation. La diffusion de l'eau dans les particules dissocie les granules d'amidon et fait gonfler les agrégats protéiques qui forment le gluten. Le gluten, doué de propriétés élastiques et visqueuses, est progressivement développé par les effets mécaniques du pétrissage. L'eau libre dissout les éléments solubles (sucres, fibres et protéines solubles, enzymes, sel), disperse les constituants insolubles et forme un milieu plus ou moins visqueux qui conditionne la machinabilité de la pâte.

Au cours du pétrissage, l'action de malaxage ou de battage conduit également à une incorporation complémentaire d'air et à sa stabilisation (sous forme d'inclusions ou nucléoles) dans le film protéique et dans la phase visqueuse ou fluide formée principalement de fibres, d'amidon et d'eau. Cette structure s'apparente à une mousse. À l'image du blanc d'œuf, plus le pétrissage est intense, plus le gluten est développé et plus l'aptitude de cette structure à retenir les gaz de fermentation augmente. De façon concomitante, le nombre d'inclusions d'air et leur régularité augmentent mais leur grosseur et l'espace entre chaque alvéole diminuent, préfigurant la structure de la mie.

Pour des techniques de façonnage données, un pétrissage intense donne une mie à petites alvéoles, régulières, nombreuses dont les parois sont fines ce qui débouche vers des textures moelleuses, alors qu'un pétrissage peu intense génère un gluten mal formé et mal développé ; dans ce cas la structure alvéolaire est plus irrégulière, le nombre d'alvéoles plus faible, la rétention gazeuse moins bonne : le pain est donc moins développé et la mie plus ferme.

Le développement du réseau de gluten et de l'aération favorisent des réactions d'oxydation entraînant à la fois des modifications de couleur, d'odeur et de stabilité du réseau protéique. Une pâte fortement pétrie devient plus blanche, et la modification aromatique est perceptible ; en outre les phénomènes d'oxydation des protéines (création de liaisons disulfures) augmentent de manière significative, ce qui renforce la résistance de la structure gluténique.

2.1.2. Structuration des pâtes alimentaires

Les quantités d'eau mises en œuvre pour préparer la pâte doivent être les plus faibles possibles pour limiter la quantité d'eau à évaporer pendant le séchage, étant donné son coût énergétique. Disperser de manière homogène une faible quantité d'eau tout en évitant la formation partielle du gluten dans certaines zones est très complexe. Dans ces conditions, pour assurer la formation d'une pâte, il est nécessaire de compacter les semoules par mise en pression dans une vis de presse.

Cette première étape de mélange est complétée par un passage dans une mélangeuse sous vide, qui évite la présence de bulles d'air dans la pâte et permet ainsi d'obtenir (figure 68) :

- une structure plus régulière, lisse, brillante et translucide ;
- un aspect moins marbré ou fissuré ;
- une meilleure homogénéité favorable à une couleur plus jaune ;
- une diminution des réactions d'oxydation ;
- une structure moins poreuse ce qui influence la vitesse de pénétration de l'eau dans la pâte, donc la durée de cuisson.

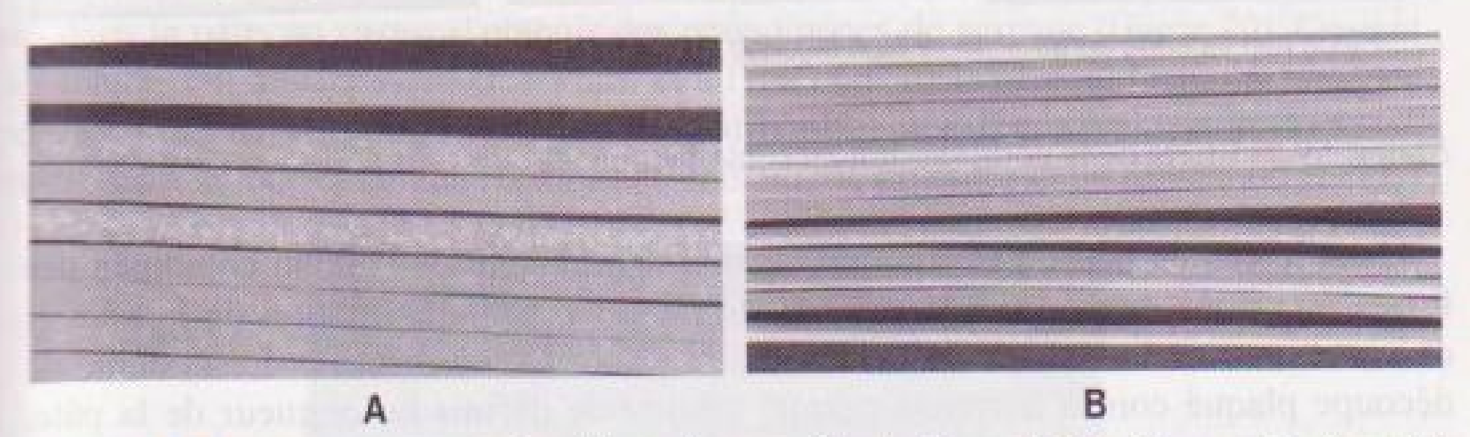


Figure 68 ■ A : pressage sans le vide (présence d'inclusions d'air) ; B : pression insuffisante dans la vis de presse.

Dans la vis de presse, l'eau diffusant dans la pâte en formation contribue à hydrater les protéines et à former un réseau gluténique continu enchassant l'amidon. Cette structure confère aux pâtes de blé dur une supériorité qualitative par

rapport aux autres céréales ; le réseau de gluten, à la fois souple et élastique, assure une stabilité des constituants de la pâte au cours de la cuisson dans l'eau et permet à celles-ci de gonfler tout en restant stable, sans coller prématurément.

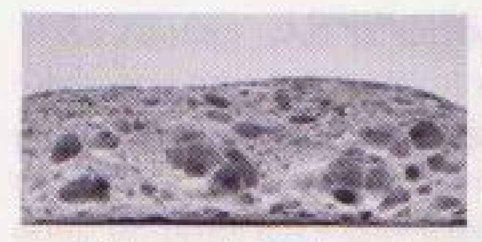
2.1.3. Formage des pâtes

Il s'agit en panification des opérations de mise en forme de la pâte avant la cuisson. La forme finale du produit dépend de manière évidente de l'utilisation qui en sera faite mais également de l'aptitude de la pâte à garder sa forme après l'opération de façonnage, lors de la fermentation (pâte levée) et pendant la cuisson.

D'une manière générale, l'aptitude de la pâte au formage est meilleure si la consistance n'est pas trop ferme. À l'inverse, elle ne doit pas s'écouler sous son propre poids, sinon la mise en forme n'est pas possible. Avec les pâtes très molles, la forme finale est assurée soit par le moule dans lequel elle a été déposée, soit par cuisson sur la plaque sur laquelle elle a été étalée (crêpes, galettes).

L'élasticité de la pâte est aussi un obstacle à une bonne machinabilité, car la difficulté d'allongement entraîne son déchirement. Si la sollicitation est trop forte, les phénomènes de rétraction qui s'en suivent obligent le manipulateur à travailler progressivement par étape en alternant les phases de travail et de repos pour lui permettre de se détendre (relaxation). Le caractère élastique diminue si la formation du gluten au pétrissage est limitée (réduction de la durée de pétrissage), si l'on limite les phénomènes d'oxydation des protéines et si l'on ajoute dans la formule de la matière grasse.

Les effets de compression pendant ces opérations entraînent à la fois un dégazage (diminution de la quantité de gaz dans la pâte) et une division alvéolaire (figure 69).



Pâton non façonné après divisage



Pâton façonné manuellement



Pâton façonné mécaniquement

Figure 69 ■ Effets de la compression au stade façonnage.

Dans le cas de pâtes alimentaires, la structure résulte de l'action combinée des fortes pressions engendrées par la vis de presse pour la formation de la pâte et de son extrusion au travers de filière assurant leur mise en forme. Le système de découpe plaqué contre le moule permet ensuite de définir la longueur de la pâte. Cette opération dite de tréfilage n'est pas unique : la mise en forme peut être obtenue par laminage de bandes de pâte sorties de presse suivie d'un découpage (pâtes pour lasagne) ou d'un estampage (pâtes « papillons »).

2.1.4. Expansion

Une pâte céréalière simple formée de farine et d'eau a toujours une densité supérieure à 1 (amidon 1,5 ; protéines 1,3), incompatible avec la formation de textures légères. Les techniques de mélange par battage ne permettent pas comme dans certaines pâtes pâtissières de créer une aération suffisante pour assurer une diminution significative de la densité de la pâte. Néanmoins la création de nucléoles d'air est un facteur favorable à l'expansion au cours d'un processus de transformation. En effet, la puissance fermentative des levures ne peut initier un foyer alvéolaire (Baker et Maze, 1941). La production du gaz carbonique engendré par l'activité de la levure au cours de la fermentation et retenue par sa structure « étanche », apporte ce complément de gaz. Le développement de la pâte est possible si la pression de ces gaz augmente dans la pâte, à condition que la structure gluténique soit apte à retenir les alvéoles gazeuses ; l'aptitude à la déformation est conditionnée par les propriétés viscoélastiques de la pâte.

La quantité principale de gaz est obtenue pendant les phases de fermentation de la pâte ; au four, il s'agit principalement de l'expansion de ces gaz et de la vaporisation qui provoquent dans les premières minutes de cuisson une déformation importante. Le niveau de développement de la pâte est déterminé par son aptitude à la rétention gazeuse et à la déformation qui conditionnent le niveau d'expansion dans les premières minutes de cuisson.

2.1.5. Stabilisation

La stabilisation de la texture des pâtes est assurée par dessiccation. Dans le cas des pâtes alimentaires, le rôle du séchage (humidité < 12,5 %) est de :

- stabiliser la forme de la pâte, donnée après tréfilage ;
- assurer une homogénéité de couleur, d'aspect ;
- assurer la rigidité, et l'élasticité ;
- assurer à la pâte sa conservation dans le temps.

La technique doit être suffisamment bien maîtrisée pour éviter les tensions internes dans la pâte, au risque d'obtenir des phénomènes de gerçage (figure 70). Ce sont des fêlures qui apparaissent en surface et à l'intérieur de la pâte de façon instantanée pendant le séchage (ruptures internes de la structure) ou différée pendant le stockage, modifiant à la fois les caractéristiques de couleur, de brillance et de résistance.

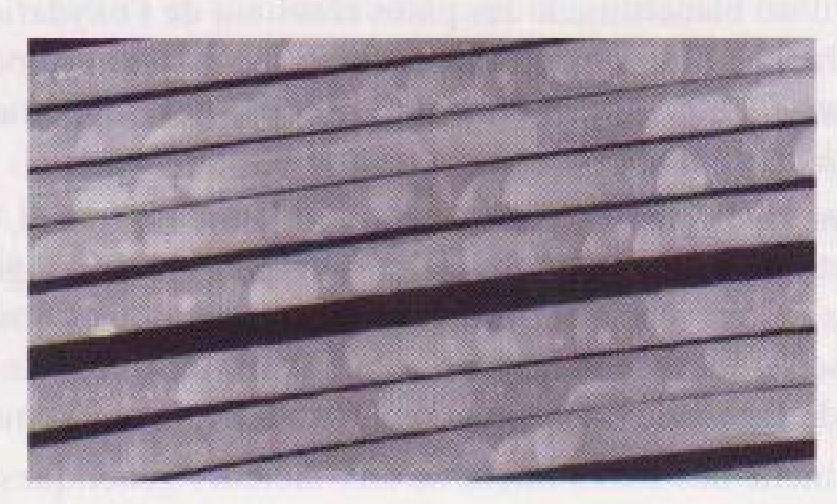


Figure 70 ■ Pâtes gercées.

Dans le cas des produits de boulangerie, la déshydratation ne doit pas intervenir avant la stabilisation de la structure alvéolaire qui est assurée par l'amidon et les protéines de la pâte lors de son expansion maximale.

Après introduction dans le four la pâte monte progressivement en température, sa viscosité diminue mais sa stabilité augmente paradoxalement. En effet, l'expansion thermique des gaz permet à la pâte de monter en pression interne et de se déformer en hauteur ; l'amidon commence à gélatiniser sous l'effet de la chaleur (plage de température de 60 à 85 °C environ), ce qui conduit à un épaississement du milieu s'opposant au phénomène d'écoulement naturel lié à l'augmentation de la température. Au-delà de la température maximale de gélatinisation, la viscosité diminue sans conséquences sur l'affaissement de la pâte car la coagulation des protéines est suffisamment avancée pour stabiliser définitivement la structure : à ce stade, la pâte figée est devenue pain, par passage d'un liquide viscoélastique à un solide viscoélastique. Cette stabilité encore limitée permet néanmoins avec les techniques modernes de surgélation et de conditionnement sous gaz de commercialiser du pain dit « précuit ». Au-delà de ce stade, la poursuite de la cuisson en une ou deux étapes (pains précuits) assure par dessiccation la stabilisation définitive du pain.

2.2. Élaboration de la couleur et de la flaveur

2.2.1. *Réactions d'oxydation*

Les acides gras insaturés (linoléique et linolénique) sont très sensibles aux phénomènes oxydatifs ; cette sensibilité est plus importante pour les acides gras libres ou non estérifiés, qui apparaissent après hydrolyse des matières grasses. Comme nous l'avons décrit dans le premier volume, l'oxydation conduit à plusieurs réactions en chaîne qui aboutissent successivement à la formation de peroxydes et d'hydroperoxydes. L'évolution des hydroperoxydes donne naissance à la formation de composés aromatiques volatils (aldéhydes, cétones, etc.) qui apportent le goût de rance auquel est associée l'acidification du milieu faisant suite à l'hydrolyse des triglycérides. Cette oxydation peut être autocatalytique ou catalysée par la lipoxygénase. Les hydroperoxydes formés provoquent des réactions d'oxydation sur les protéines ou sur les pigments de type carotène, entraînant le passage de couleur crème vers des tons blancs. En panification la recherche d'un pain à structure alvéolaire favorisant le caractère moelleux nécessite un pétrissage intensifié qui s'accompagne automatiquement d'un blanchiment des pâtes résultant de l'oxydation des pigments. À l'inverse, la recherche d'une spécificité aromatique du pain suppose de réduire au maximum l'oxydation de la pâte et donc de limiter le développement du gluten qui de ce fait conduit à un pain plus dense et une mie plus crème.

Dans le domaine de la pastification, la couleur jaune des pâtes, en grande partie issue des formulations à base d'œufs, est conservée si le pressage s'effectue avec une teneur réduite en oxygène. La diminution d'activité de la lipoxygénase et de la polyphénoloxydase seront recherchées pour maintenir un indice de jaune élevé proche de la couleur de l'amande du grain et pour limiter le brunissement.

La sélection actuelle des blés s'intéresse aux facteurs génétiques responsables de la couleur et des activités enzymatiques d'oxydation.

2.2.2. *Fermentations*

Ces transformations recouvrent à la fois l'activité en milieu aérobie ou anaérobie des micro-organismes incorporés ou non dans la pâte et l'activité des enzymes présentes dans le milieu. Ces transformations biologiques génèrent des molécules possédant un pouvoir aromatique, une saveur ou des précurseurs d'arômes et de goût. Les activités enzymatiques sont principalement de type hydrolases (amylases, protéases, lipases) et oxydases.

À partir de glucose, de maltose, de saccharose, les levures en milieu anaérobie produisent essentiellement de l'éthanol et du gaz carbonique (95 %) ; des fermentations secondaires aboutissent à des composés aromatiques (alcools supérieurs, composés carbonylés, esters et acides organiques).

La présence de bactéries dans la farine a des conséquences variables sur la formation des composés d'arômes et de saveur. Dans les processus d'élaboration de levains spontanés, les bactéries lactiques deviennent majoritaires, leur nombre dépasse celui des cellules de levure. Deux familles se distinguent, les bactéries lactiques homofermentaires produisant de l'acide lactique et les bactéries lactiques hétérofermentaires formant de l'acide lactique, de l'acide acétique, du gaz carbonique et des composés aromatiques secondaires intervenant dans la diversité des flaveurs. Lorsque la fermentation est à dominante levurienne, ces bactéries ne peuvent s'exprimer, leur influence sur les arômes et le goût devient alors très limitée.

2.2.3. *Réactions de Maillard et de caramélisation*

Les réactions de coloration de type caramélisation et de type Maillard (brunissement non enzymatique ; cf. chapitre 5, premier volume) ont un rôle déterminant dans la formation de la couleur et de l'arôme.

Les sucres simples présents en périphérie de la pâte fondent à partir de 130-140 °C et interréagissent pour donner par caramélisation des produits de transformation colorés de hauts poids moléculaires vers 180 °C.

La présence de protéines favorise la dégradation des sucres selon la réaction de Maillard. Cette réaction se produit entre les groupements NH_2 libres des protéines présents sur les chaînes latérales de certains acides aminés (lysine notamment) et les groupements C=O des sucres réducteurs, conduisant à la formation d'eau et de glycosylamine ; les dégradations successives de cette molécule donnent naissance à des substances volatiles et aux mélanoïdines, responsables des modifications aromatiques et de couleur.

Les cinétiques des réactions de Maillard dépendent de la température, de l'activité de l'eau et du pH ; les conditions optimales correspondent à une a_w de 0,7 et un pH proche de la neutralité : la neutralisation par de la soude ou de la potasse est ainsi pratiquée dans la fabrication des *bretzels* et des *bagels* pour favoriser la coloration de la croûte.

3. Technologie de la mouture, de la panification et de la pastification du blé

3.1. Transformation du grain en farines et semoules

La mouture regroupe l'ensemble des opérations de meunerie, de l'arrivée des blés à l'usine au départ de la farine. Dans son sens le plus strict, ce terme désigne la réduction du blé en farine. La technologie de mouture la plus répandue est celle utilisant de multiples paires de cylindres en fonte ; néanmoins quelques moulins à meules de pierres sont toujours en fonctionnement.

3.1.1. *Transformation du blé tendre en farine*

Selon le recueil des usages des pains en France (1977) « la dénomination de farine de froment ou farine de blé, ou farine sans autre qualificatif désigne exclusivement le produit pulvérulent obtenu à partir d'un lot de blé, de l'espèce *Triticum aestivum*, sous espèce *vulgare*, sain loyal et marchand préparé en vue de la mouture et industriellement pur ».

3.1.1.1. Nettoyage et humidification du blé

Les lots de blés réceptionnés doivent être nettoyés et préparés avant de passer en mouture. L'élimination des principales impuretés est basée sur leurs caractéristiques physiques :

– taille : tamisage (nettoyeur séparateur) ;
– densité : aspiration, décantation (épierreur), centrifugation (cyclone) ;
– forme : trieur graines rondes ou longues ;
– propriétés magnétiques : aimants.

Parallèlement à ces opérations de nettoyage, le minotier « prépare » son blé par des opérations de mouillage et de repos — en général de 24 h pour les blés français — pour faciliter lors de la mouture du grain, la séparation des enveloppes et la réduction de l'amande. On cherche à rendre les enveloppes plus souples et plus élastiques de façon à éviter la présence en grande quantité de fines brisures dans la farine blanche, pour faciliter le travail de « curage » des sons. L'humidification de l'amande favorise également la réduction des semoules en farine. Le blé ainsi humidifié contient 16 à 17 % d'eau.

3.1.1.2. Principe de la mouture sur meules et sur cylindres

Elles se résument à des opérations de réductions et séparations du blé et de ses fractions, l'objectif étant aussi de séparer au mieux l'amande farineuse du son et du germe.

► MOUTURE PAR FRAGMENTATION SUR MEULE

La paire de meules est composée de deux parties superposées, la partie supérieure mobile (meule tournante) et la partie inférieure fixe (meule gisante). Le grain

arrive au centre de la meule tournante et est écrasé jusqu'à la périphérie où il est évacué. La meule produit un travail d'écrasement et d'usure.

▶ MOUTURE PAR FRAGMENTATION SUR CYLINDRES

On distingue les cylindres cannelés (broyeurs) et les cylindres lisses (claqueurs et convertisseurs). Les broyeurs à cylindres cannelés (figure 71 A) permettent de travailler davantage en cisaillement à cause d'une vitesse différentielle élevée (rapport de vitesses cylindre lent/cylindre rapide : 1/2,5) et la présence de fines cannelures. Les cannelures de forme angulaire sont caractérisées par une pente qui peut être différente suivant les côtés de l'angle. Une pente faible est moins coupante et plus propice à un travail d'écrasement (positionnement dos) ; à l'inverse, une pente forte favorise le tranchant (positionnement tranchant). Selon le positionnement et l'orientation des cannelures on favorise le travail de cisaillement ou d'écrasement. Après chaque passage, on effectue un tamisage (figure 71 B).


A

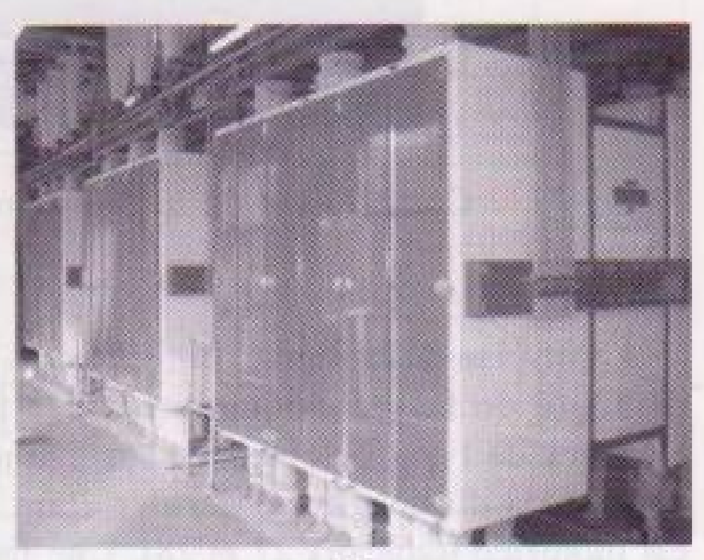

B

Figure 71 ■ Mouture par fragmentation sur cylindres. A : étage des appareils à cylindres d'un moulin moderne ; B : étage des plansichters (tamiseurs).

Les broyeurs aux nombres de 4 ou 5 (B1, B2, B3, B4, B5) se distinguent par :
- l'écartement entre les cylindres ;
- le nombre de cannelures ;
- le positionnement des cannelures (figure 72).

Ainsi lorsque l'on passe du premier broyeur B1 au dernier B5, les enveloppes contiennent de moins en moins d'amande ; le travail consiste à gratter progressivement les enveloppes pour enlever l'amande adhérente. L'amande réduite après chaque passage de broyeur est constituée de fractions grosses (semoules) et de fractions fines < 200 µm (farines). Les farines sont extraites tandis que les semoules sont envoyées sur les cylindres lisses (rapport de vitesses cylindre lent/cylindre rapide : 1/1,25 à 1/1,4) adaptés pour l'écrasement (transformation en farine). Les grosses semoules sont dirigées sur les claqueurs et les fines sur les convertisseurs, le nombre de passages sur ces cylindres lisses est en général de 10 (figure 73).

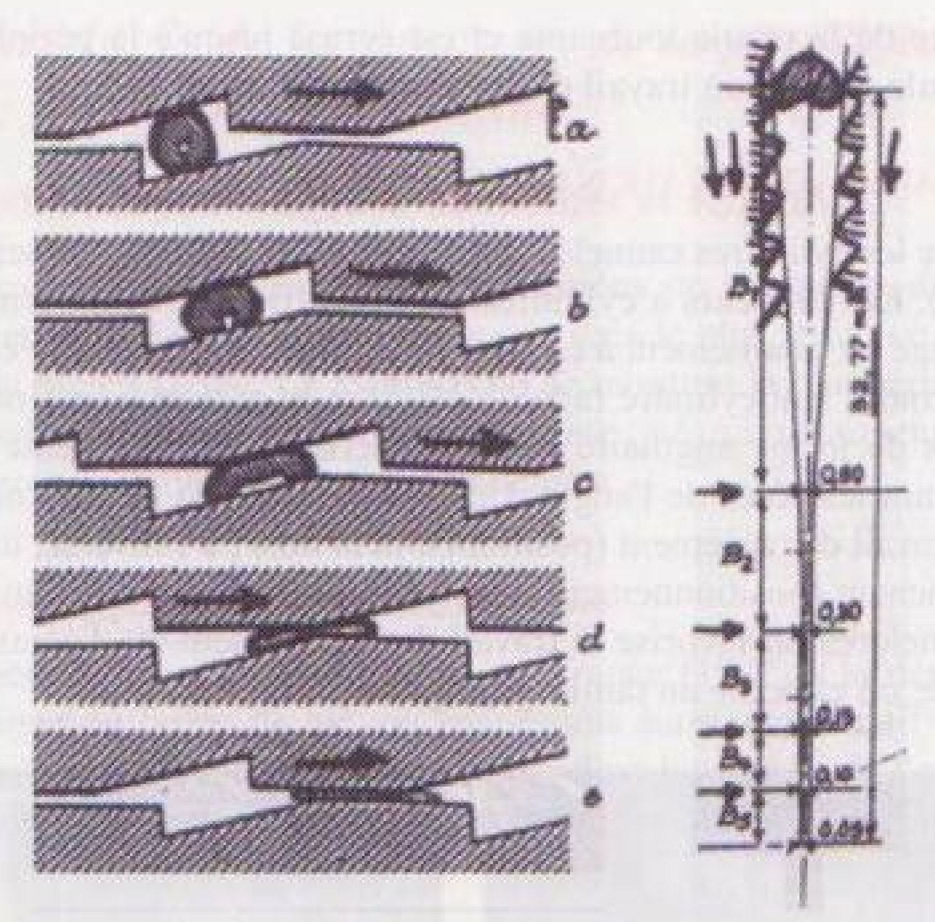


Figure 72 ■ Comparaison du travail de réduction du grain entre meules et cylindres (Willm, 1990).

À l'inverse de la meule, la technique sur cylindres permet d'obtenir une grande diversité de farines, notamment des farines blanches. Les farines courantes, blanches de type 55, obtenues sur cylindres contiennent peu d'assise protéique et d'éléments du germe, ce dernier étant séparé : la composition nutritionnelle en est modifiée (tableaux 27 et 28). Une farine de meule obtenue par écrasement de la totalité du grain contient une partie de ces éléments. Pour fabriquer une farine moins raffinée avec un moulin à cylindres, on introduit *a posteriori* des fractions fines d'enveloppes (les remoulages) ; ces fragments étant assez grossiers, la farine est donc moins fine qu'avec une mouture sur meule.

Tableau 27 ■ Valeur nutritionnelle des farines pour 100 g de matière telle quelle.

Type farine	Valeur nutritionnelle			
	Eau (g)	Protéines (g)	Lipides (g)	Glucides (g)
150	14-15	10,0-11,5	1,5-2,0	68-73
80	14-15	9,5-11,0	1,2-1,6	69-74
55	14-15	9,0-10,5	1,0-1,2	70-75

Lorsque la mouture sur meule est bien conduite, la réduction plus poussée par rapport à la technique sur cylindres donne des farines plus fines, plus grasses, favorisant l'activité des levains, mais qui se conservent moins longtemps. Si les farines de meule n'ont pas une supériorité évidente en terme de valeur boulangère par rapport à des farines de cylindres, elles n'en présentent pas moins des différences qui

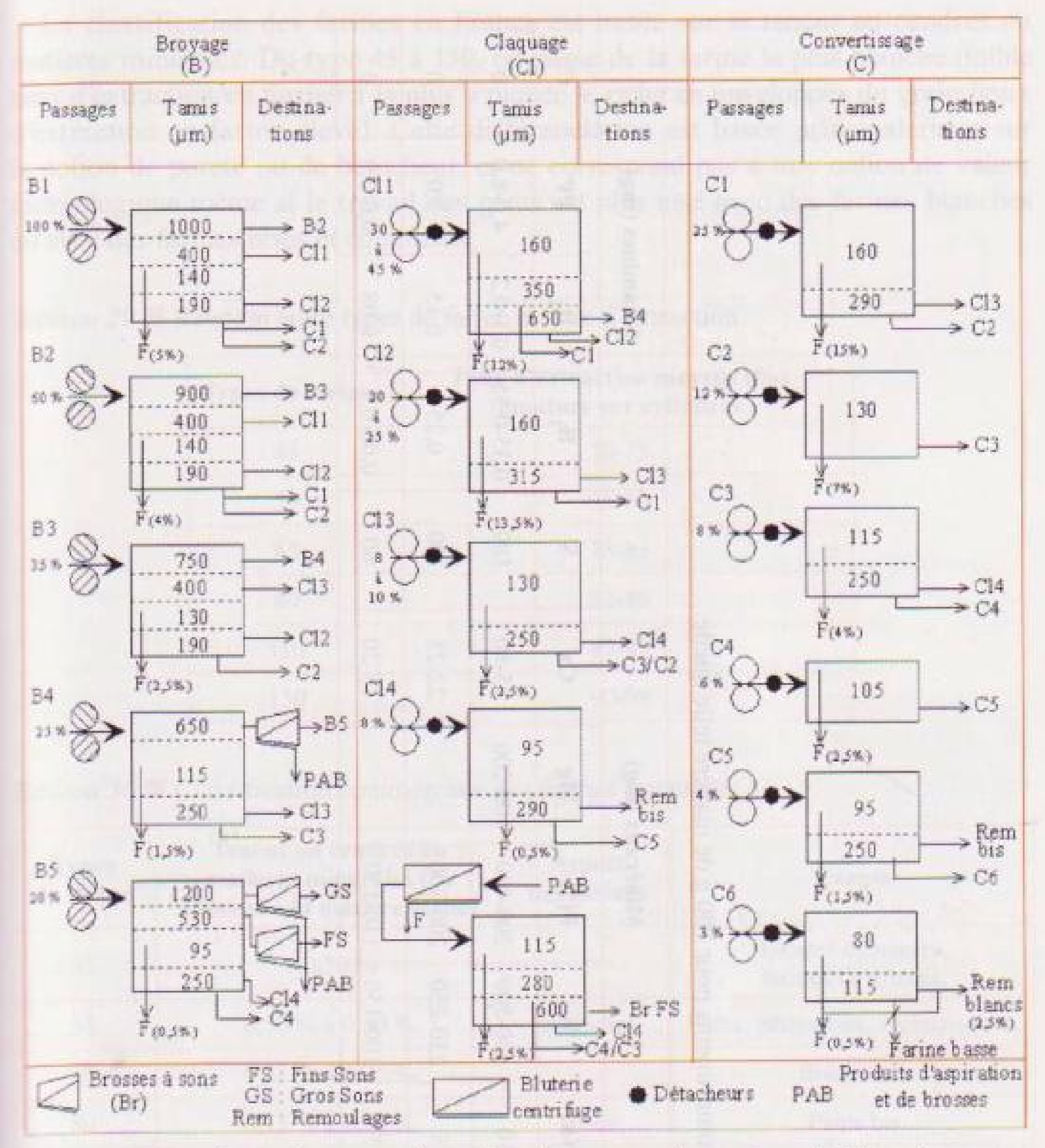


Figure 73 ■ Représentation synoptique d'un diagramme de mouture de blé tendre.

donnent des qualités variables de pain notamment sur le « toucher de pâte » et la couleur de la mie

3.1.1.3. Notion de valeur meunière

Les objectifs de la mouture sont de :

- séparer au mieux l'amande de l'enveloppe et du germe du blé pour réaliser le meilleur rendement en farine (tableau 29) pour un type de farine déterminé (tableau 30) ;
- réduire les fragments d'amande en éléments suffisamment fins pour obtenir de la farine.

Tableau 28 ■ Composition moyenne en micronutriments pour 100 g de matière telle quelle.

Type	Fibres (g)		Minéraux (mg)						Vitamines (mg)			
	cellulose	**hémi-celluloses**	**Na**	**K**	**P(*)**	**Mg**	**Ca**	**S**	**B_1**	**B_2**	**PP**	**C**
150	1,5-2,5	6-8	10	300-500	200-400	100-200	25-80	180	0,35-0,55	0,1-0,2	4,0-8,0	0
80			5	230-250	200-300		22-25	100	0,25	0,15	3,0	0
55			3	100-150	110-150		15-20	60	0,06-0,1	0,08	0,6-0,9	0

La classification des farines en France est basée sur la teneur en cendres ou matières minérales. Du type 45 à 150, on passe de la farine la plus blanche (faible taux d'extraction en farine) à la plus « piquée », riche en enveloppes du grain (taux d'extraction en farine élevé). Cette différenciation est basée principalement sur la notion de pureté ou de blancheur, et ne correspond pas à une notion de valeur technologique même si le travail des pâtes est plus aisé avec des farines blanches qu'avec des farines bises et complètes.

Tableau 29 ■ Relation entre types de farine et taux d'extraction.

Types de farine	**Taux d'extraction moyens (%) mouture sur cylindres**
45	70-75
55	75-80
65	78-83
80	82-86
110	87-90
150	90-98

Tableau 30 ■ Classification commerciale des farines françaises.

Types de farine	**Teneur en cendres ou matières minérales (% ramené à la matière sèche)**	**Aspect des farines**	**Usages**
45	< 0,50 %		Usages ménagers, farines de gruaux,
55	0,50 % à 0,60 %	Blanches	Pains, pâtisseries, viennoiseries,
65	0,62 % à 0,75 %		Biscuiterie
80	0,75 % à 0,90 %	Bises	Pains bis
110	1,00 % à 1,20 %		
150	> 1,40 %	Complètes	Pains complets

L'habileté du meunier réside dans sa capacité à produire à partir d'un blé une extraction maximale de farine en incorporant le minimum de parties périphériques du grain (riche en matières minérales ; tableau 31).

Si la maîtrise de la technique meunière est indispensable, certains blés possèdent, plus que d'autres, une meilleure aptitude à atteindre ces objectifs. Les blés et les variétés de blé se distinguent les uns des autres par des comportements en mouture différents :

– le *taux d'extraction* : dépend de la teneur en fibres, du rapport enveloppes/amande, des teneurs en matières minérales, de la facilité de blutage, de la friabilité et de la résistance ;

Tableau 31 ■ Répartition des matières minérales dans le blé.

Constituants	% de matières minérales par rapport à la matière sèche
Péricarpe	2-4
Tégument séminal	12-18
Assise protéique	6-15
Germe	5-6
Amande	0,35-0,60
Blé entier	1,6-2,1

- *les indices de dureté et de vitrosité* : permettent de classer les variétés en catégories (*hard, médium hard, soft*). Ils sont reliés à la proportion d'amidons endommagés par la mouture au cours de la fragmentation de l'amande du blé. La dureté est une caractéristique génétique : un gène majeur (ha) lié au caractère de dureté a été identifié. La théorie la plus répandue évoque la présence de la puro-indoline a et b dont le rapport a/b correspond à des duretés différentes et la présence d'une protéine dénommée friabiline ; l'intervention possible de certains lipides est également envisagée. La vitrosité est une caractéristique visuelle liée au degré de compaction du grain. Elle augmente proportionnellement à la teneur en protéines, ce qui se traduit par un passage d'un aspect farineux à un aspect vitreux. La dureté et la vitrosité influent sur les propriétés mécaniques du grain pendant les opérations de réduction ;
- *la friabilité, cohésion des constituants, granulométrie :* la friabilité diminue lorsque l'indice de dureté augmente (blés hard) et donc la granulométrie devient plus grossière. Les blés « soft », à l'inverse, offrent une cohésion moins forte des constituants de l'amande (granules d'amidon, protéines, fibres) : la fragmentation est alors plus facile et les farines plus fines (figure 74). Dans ce cas, cette meilleure dissociation des éléments facilite leur séparation dans des techniques de turboséparation.

3.1.2. Transformation du blé dur en semoules

La mouture du blé dur se distingue de celle du blé tendre car dans ce cas l'objectif est de produire des semoules pures et non de la farine.

La préparation des blés suit la même logique qu'en meunerie de blé tendre, et l'humidification aux environs de 17 % de teneur en eau est indispensable pour assouplir l'enveloppe et la séparer du reste de l'amande. En revanche, l'eau ne doit pas trop pénétrer dans l'amande lors de cette étape afin d'éviter de diminuer trop fortement sa résistance, ce qui favoriserait la production de farine, lui ferait perdre sa brillance et diminuerait sa couleur jaune. De ce fait, l'humidification se fait de préférence en trois étapes avec des temps de repos courts (3 à 6 h pour les deux premiers repos, 30 min pour le dernier).

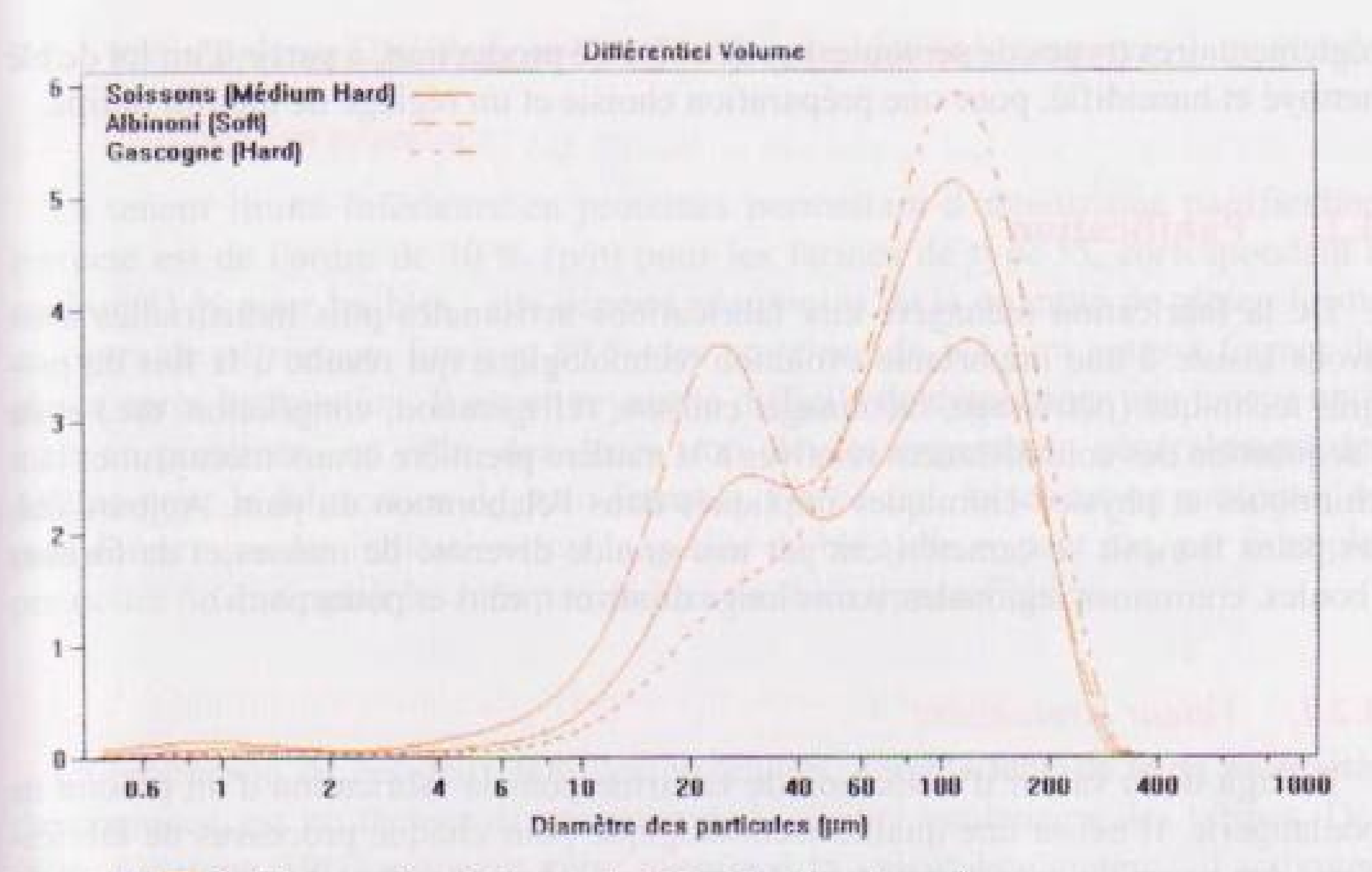


Figure 74 ■ Profils granulométriques de blés « hard » et « soft ».

La mouture dans la phase broyage est plus progressive ; elle nécessite jusqu'à sept passages, avec un positionnement des cannelures tranchant/tranchant favorable à la production de semoules. Ces semoules se partagent entre des fractions pures et des fractions avec des fragments d'enveloppes appelées « semoules vêtues », plus denses mais de granulométrie comparable. Elles sont séparées dans des équipements (sasseurs) faisant intervenir un double tri densimétrique et granulométrique, puis traitées à nouveau sur des appareils à cylindres (désagrégeurs) au réglage adapté, afin d'éliminer les parties adhérentes qui nuisent à leur couleur. Les convertisseurs, très importants en meunerie pour la production de farine, sont en semoulerie seulement des réducteurs à semoules. Les opérations de tamisage sont définies à la fois par des objectifs de production (répartition équilibrée de l'alimentation des appareils à cylindres) et par les types de granulométries recherchées (tableau 32).

Tableau 32 ■ Exemple de classification des semoules en fonction de la granulométrie.

	Grosses semoules				Moyennes semoules		Fines semoules		Farine
Tamis				42	60	80	100	120	
Ouverture (µm)	1 150-1 000	900	700-800	530	350	250	187	161	140
Classes	GG	MG	SSSG	SSSSE-SSSS	SSSE		→	←	gruaux D
	non sassées		sassées			SSSF		→	(pâtes animaux)
Destinations	Potage		Couscous	Potage	Pâtes alimentaires				

S (sassage), SSS (3 passages de sassage), E (export), F (fine), M (moyenne), G (grosse), gruaux D (gruaux durs).

À l'image de la valeur meunière, la valeur semoulière peut se résumer au rendement maximum en semoules, dans le respect d'objectifs qualitatifs, de contraintes

réglementaires (types de semoules) et de coûts de production, à partir d'un lot de blé nettoyé et humidifié, pour une préparation choisie et un réglage de moulin défini.

3.2. Panification

De la fabrication ménagère aux fabrications artisanales puis industrielles nous avons assisté à une importante évolution technologique qui résulte à la fois du progrès technique (pétrissage, façonnage, cuisson, réfrigération, congélation, etc.) et de l'acquisition des connaissances relatives à la matière première et aux mécanismes biochimiques et physico-chimiques impliqués dans l'élaboration du pain. Aujourd'hui, les pains français se caractérisent par une grande diversité de masses et de formats (boules, couronnes régionales, pains longs droits et tordus et petits pains).

3.2.1. Valeur boulangère

Il s'agit de la valeur d'utilisation de la farine pour la fabrication d'un produit de boulangerie. Il existe une qualité technologique pour chaque processus de fabrication ; par exemple, une farine type 55 qui a une bonne valeur boulangère pour la fabrication du pain a en général une valeur technologique moyenne pour la fabrication des brioches ou du feuilletage et mauvaise pour la biscuiterie. La détermination de la qualité technologique suppose la mise en œuvre d'un protocole normalisé d'un test de fabrication à échelle réduite.

La valeur boulangère (norme NF V03-716) intègre des notions distinctes :

– le rendement en pâte : quantité d'eau que peut absorber la farine pour une consistance donnée ;
– la machinabilité de la pâte : aptitude à être travaillée sans difficulté de la panification jusqu'à la cuisson. Cette caractéristique qualitative prend en compte des notions de collant, d'élasticité, de stabilité, d'aptitude à la déformation de la pâte ;
– le développement de la pâte et du pain : aptitude à la rétention gazeuse et à la déformation ;
– la qualité organoleptique de la mie du pain : couleur, odeur, texture.

L'ensemble de ces observations cotées, à l'exception du rendement en pâte, constitue la note de valeur boulangère exprimée sur 300 points. La valeur technologique d'une farine dépend fortement de la ou des variétés de blé dont les spécificités sont liées principalement à la quantité et qualité des protéines et aux activités enzymatiques. Néanmoins, l'identification de la variété ne suffit pas pour connaître sa valeur technologique ; parmi les méthodes indirectes d'appréciation de la qualité des farines, on distingue les analyses rhéologiques (alvéogramme), les analyses chimiques (teneurs en protéines), les analyses enzymatiques (temps de chute de Hagberg), les analyses physico-chimiques (granulométrie, amidons endommagés, indice de Zélény).

3.2.2. Critères qualité de la valeur boulangère des blés tendres

3.2.2.1. Teneur en protéines

La teneur limite inférieure en protéines permettant d'obtenir une panification correcte est de l'ordre de 10 % (p/p) pour les farines de type 55, correspondant à environ 11 % pour les blés ; elle dépend néanmoins de la quantité de gluten formé en cours de pétrissage. Environ 80 % des protéines du blé sont aptes à former du gluten après hydratation. Il est en revanche difficile de déterminer une teneur optimale en protéines : en effet, des doses trop élevées engendrent généralement des défauts pour la fabrication du pain français. De ce fait, la teneur en protéines ne peut donner que des indications sur la qualité du blé ; elle ne peut pas, par exemple, permettre de distinguer les blés panifiables des blés impanifiables.

3.2.2.2. Qualité des protéines : rapport gluténine/gliadine

La proportion de ces deux familles protéiques, compte tenu de leurs propriétés rhéologiques, est un facteur de variation de la qualité boulangère des farines. Dès 1896, Fleurent (1911) associait cette mesure à la valeur boulangère ; il indiquait comme référence d'une bonne valeur un rapport de 0,3 et ajoutait : « *Lorsqu'une farine contient un excès de gliadine, elle donne une pâte douce qui se développe bien à la fermentation, mais qui s'affaisse sous l'action de la chaleur au four. Si, au contraire, la farine contient un excès de gluténine, le manque d'extensibilité du gluten fait que la pression gazeuse n'est pas capable de l'allonger et que la pâte augmente fort peu de volume pendant le travail du levain ou de la levure* ».

Le rapport gluténine/gliadine est caractéristique de la variété, mais il évolue en fonction des techniques culturales (influence des apports d'engrais azotés) et des conditions de développement du blé, qui sont des facteurs influant sur la teneur en protéines ; il peut être déterminé par chromatographie de perméation. Les rapports pour les blés français se situent actuellement aux alentours de 0,6. Lorsque ceux-ci sont inférieurs à 0,4 le gluten apparaît très extensible et à l'inverse pour des rapports supérieurs à 0,8 on obtient un excès de résistance des pâtes.

L'augmentation de la teneur en gliadines est proportionnelle à l'augmentation de la teneur en protéines, la teneur en gluténines étant assez constante pour une variété de blé donnée ; ces variations modifient la valeur boulangère.

3.2.2.3. Indice de Zélény

Cette mesure est basée sur l'absorption d'eau par le gluten et son gonflement en présence d'acide lactique. La farine est mélangée à une solution diluée d'acide lactique. Après agitation, le mélange est laissé au repos, et une sédimentation se forme progressivement au fond du tube. La hauteur du dépôt dépend de la quantité d'eau absorbée et du gonflement des protéines, donc de la quantité et de la qualité de celles-ci.

La valeur de la sédimentation ou indice de Zélény peut varier entre 15 (mL) pour les farines les plus faibles à 80 (mL) pour les valeurs les plus fortes. Pour les blés destinés à la boulangerie courante, la plage de 30 à 40 mL est souhaitable. Les blés

dont l'indice est inférieur à 20 mL sont acceptés pour la commercialisation et destinés à la biscuiterie.

3.2.2.4. Force boulangère (W)

La force boulangère, notée W, est évaluée à partir d'une pâte de farine et d'eau salée formée dans un pétrin de laboratoire. Le temps de pétrissage et la teneur en eau sont normalisés. À l'issue du pétrissage, la pâte est laminée et découpée en éprouvettes circulaires. Après un temps de repos de 20 min, on procède au gonflement de cette éprouvette et on enregistre la déformation de la pâte jusqu'à éclatement (figures 75 et 76).



Figure 75 ■ Déformation de la pâte à l'alvéographe de Chopin.

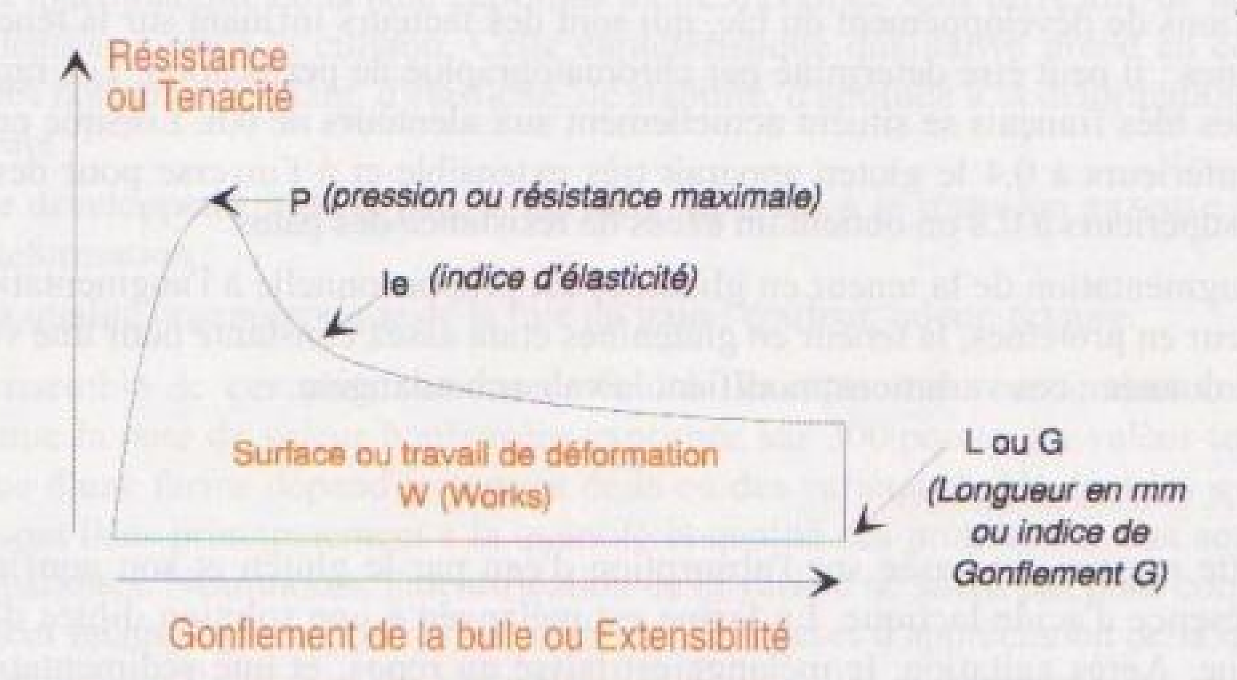


Figure 76 ■ Alvéogramme (courbe de résistance dans la bulle en fonction du gonflement).

Le travail de déformation W ou surface du diagramme est assez bien corrélé à la quantité de gluten. La résistance maximale P, l'indice d'élasticité I_e et l'indice de gonflement G sont des indicateurs de qualité des propriétés rhéologiques des pâtes (résistance, extensibilité).

Le W d'une farine destinée à la boulangerie ne doit être ni trop faible, ni trop fort (tableau 33) ; des blés à forts W peuvent être pénalisants lorsqu'ils sont utilisés purs, mais sont très recherchés pour l'amélioration des lots de blés courants. La moyenne des W des farines destinées à la boulangerie pour la fabrication du pain courant (tableau 34) se situe entre 180 et 220, avant incorporation facultative de produits d'addition.

Tableau 33 ■ Analyse des paramètres alvéographiques en fonction d'une utilisation en panification française (sans présence de produits d'addition).

Appréciations	**P**	**G**	**I_e**	**W**
Insuffisant	< 40	< 20	< 35	< 150
Moyen	40-60	20-22	35-45	150-180
Bon	60-80	22-24	45-55	180-220
Élève	> 80	> 24	> 55	> 220

Tableau 34 ■ Valeurs indicatives de W pour différentes fabrications.

Destinations	**Force boulangère moyenne en unité alvéographique (W) (farines ne contenant pas d'acide ascorbique)**
Pâtes brisées	120-140
Pâtes feuilletées	180-200
Pâtes sablées	150-170
Pain de tradition avec pointage long	150-180
Pain de tradition	200-220
Pain courant français, pizza	180-220
Pain pousse contrôlée, croissant	200-250
Pain français par congélation de la pâte	220-270
Biscottes, pain de mie courant	200-240
Brioche	250-300
Pain de mie américain de type buns	> 350

3.2.2.5. Activité amylasique

L'activité amylasique qui détermine la fermentescibilité de la pâte dépend des conditions climatiques jusqu'à la récolte et des conditions de conservation après récolte. En effet, un blé humide passe assez rapidement à un stade de prégermination et de germination conduisant au développement des activités enzymatiques, notamment d'hydrolases dont le rôle est de scinder les substances de réserve (protéines, amidon, lipides, etc.) en éléments simples utilisables dans le développement de la nouvelle plantule. À un stade avancé de ce processus de dégradation, le blé n'est plus panifiable ni utilisable pour d'autres applications. L'excès d'activité amy-

lasique conduit à une accélération de la fermentation et au rougissement excessif de la croûte du pain. À l'inverse un défaut d'activité amylasique ralentit le processus fermentaire, et les pains sont alors moins développés et présentent une couleur de croûte pâle ; ce défaut peut être corrigé par un ajout de farine de malt.

L'activité amylasique est appréciée par deux méthodes basées sur le niveau de gélatinisation de l'amidon : le temps de chute de Hagberg et l'amylographe de Brabender (figure 77 et tableau 35). Ces méthodes sont basées sur la mesure de viscosité, qui chute au moment de la gélatinisation lors de l'hydrolyse des granules par les amylases.

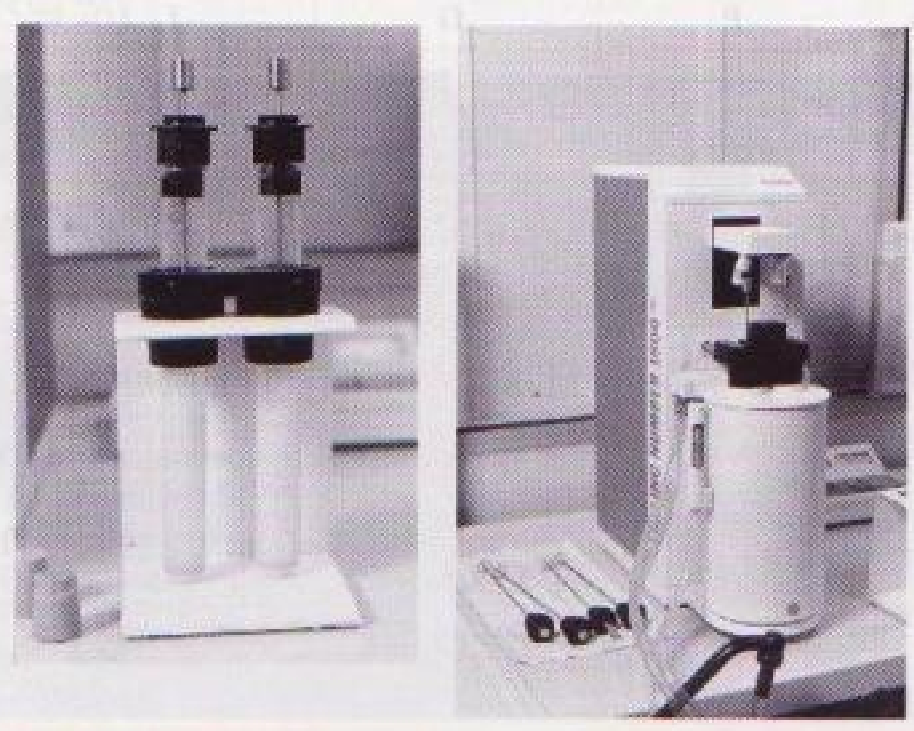


Figure 77 ■ Appareil de Hagberg.

Tableau 35 ■ Analyse des valeurs de temps de chute de Hagberg.

Activités	Temps de chute de Hagberg (s)	Amylographe de Brabender (Unités Brabender)
Faibles	> 300	> 400
Normales	250-300	300-400
Fortes	< 250	< 300

3.2.3. Conduites de panification

3.2.3.1. Pétrissage

Cette première opération, dont les techniques (figures 78 et 79) ont beaucoup évolué, a un impact important sur la qualité du pain ; elle a trois objectifs principaux : l'obtention d'un mélange homogène des différents ingrédients (farine, eau, sel, levain, etc.), la texturation du gluten et l'aération de la pâte.

L'intensité de pétrissage varie en fonction des caractéristiques souhaitées du produit fini. Son efficacité pour un même apport énergétique dépend des propriétés de la pâte, variables selon les lots de farine. Il est possible de programmer l'arrêt du

Formule

Composants	Pétrissage conventionnel	Pétrissage amélioré	Pétrissage intensifié
Farine	100	100	100
Sel	1,8 - 2	2	2 - 2,2
Levure	1 - 1,5	1,5 - 2	2 - 3
Eau	60	60	60
Acide ascorbique	0	0 - 20 ppm	20 - 80 ppm

Pétrissage (pour un pétrin de type axe oblique)			
Lent (40 tr / min)	10 – 15 min	2 - 4 min	2 - 4 min
Rapide (80 tr / min)	0	8 - 12 min	18 - 22 min

Pointage (1re fermentation)			
Durée	2 - 3 h	30 - 150 min	0 - 40 min

Mise en forme

Apprêt (2e fermentation)			
Durée à 27 °C	1 h - 1 h 30	1 h 30 - 2 h	2 h - 3 h

Scarification

Cuisson

Figure 78 ■ Synoptique de fabrication du pain français par fermentation directe à la levure en fonction du type de pétrissage.



Figure 79 ■ Pétrissage avec un pétrin à axe oblique.

pétrin en fonction de l'énergie dispersée dans la pâte ou de l'augmentation de température puisqu'il y a relation entre l'élévation de température et le travail fourni.

Dans le cas où le pétrissage est réalisé en cuve fermée il est possible d'alterner un travail en surpression ou en dépression (vide partiel). En surpression, l'introduction de l'air en proportion plus importante que dans les conditions normales de pétrissage assure une forte aération facilitant les réactions d'oxydation favorables à la création d'inclusions d'air, mais un excès conduit à une légère irrégularité de la structure alvéolaire. Sous vide, on dégaze la pâte, la texture devient très hétérogène ; elle se caractérise alors par une diminution du nombre d'alvéoles, très irrégulières et aux parois épaisses. En revanche une légère dépression en fin de pétrissage permet d'optimiser la régularité alvéolaire sans diminuer le nombre d'alvéoles. Les effets d'une surpression préalable puis d'une dépression sont notamment recherchés dans la fabrication de pain de mie.

3.2.3.2. Fermentation

Elle recouvre à la fois des actions microbiennes (levures et bactéries) et des modifications physico-chimiques de la pâte. Au cours de la fermentation, la pâte prend de la force ce qui correspond à une augmentation de l'élasticité, une diminution de l'extensibilité et du relâchement. Ce phénomène s'explique en grande partie par l'oxydation des protéines favorisant la formation de liaisons disulfures entre les molécules constitutives du gluten : la fermentation, en provoquant une mise en mouvement permanent de la pâte, crée les conditions favorables à la rencontre des molécules réactives. Cette prise de force est indispensable pour assurer une stabilité suffisante de la pâte boulangère jusqu'en début de cuisson. À défaut, la pâte relâche, excepté si l'on ajoute un produit comme l'acide ascorbique capable d'accélérer ces phénomènes d'oxydation sur le gluten ; le contrôle de cette évolution se fait principalement lors de la première étape de fermentation que l'on nomme pointage.

La fermentation engendre également un travail de déformation complémentaire au pétrissage et contribue ainsi au développement du gluten, au grossissement des alvéoles préexistantes et à leur irrégularité (figure 80). En absence d'acide ascorbique et lorsque le pétrissage est court (oxygénation faible, développement du gluten limité) un temps de pointage long est nécessaire pour parfaire la structuration du gluten et assurer une prise de force suffisante.

Lorsque les conditions de stabilisation de la pâte ont été définies (temps de pointage ou présence de produits de nature oxydante), les opérations de mise en forme se succèdent avant la dernière étape de fermentation pendant laquelle la pâte se développe. Cet apprêt est conditionné par l'aptitude au développement de la pâte et à sa stabilité au moment de la mise au four et en cours de cuisson.

La levure de boulangerie incorporée dès le stade du pétrissage produit en milieu non oxygéné du gaz carbonique, de l'éthanol et quelques composants aromatiques secondaires, à partir de sucres tels que le glucose. En absence de levure, il faut exploiter la flore endogène de la farine en élaborant un levain naturel (tableau 36). La farine, préférentiellement la farine complète contenant la périphérie du grain, apporte des levures et des bactéries, mais la concentration de ces micro-organismes est insuffisante pour assurer la fermentation d'une pâte en quelques heures. Il faut



Figure 80 ■ Mesureurs de « pousse » pour la mesure de l'activité fermentative.

donc les développer à partir d'une pâte qu'on laisse fermenter spontanément ; par une succession de rafraîchis (pétrissage du levain avec de la farine, de l'eau et de l'air), on renouvelle le milieu pour permettre un redémarrage et une multiplication en milieu aérobie, et ce levain élaboré sert de ferment pour une pâte panifiée lorsque l'activité est devenue constante.

La maîtrise de l'activité et la stabilité d'un levain relèvent du professionnalisme du boulanger. Il en résulte des différences qualitatives (volume, arômes, goût) qui font l'originalité du levain naturel. Les industriels, de leur côté, ont plus de difficultés à assurer sa régularité, à cause de la faible flexibilité des systèmes de production automatisés.

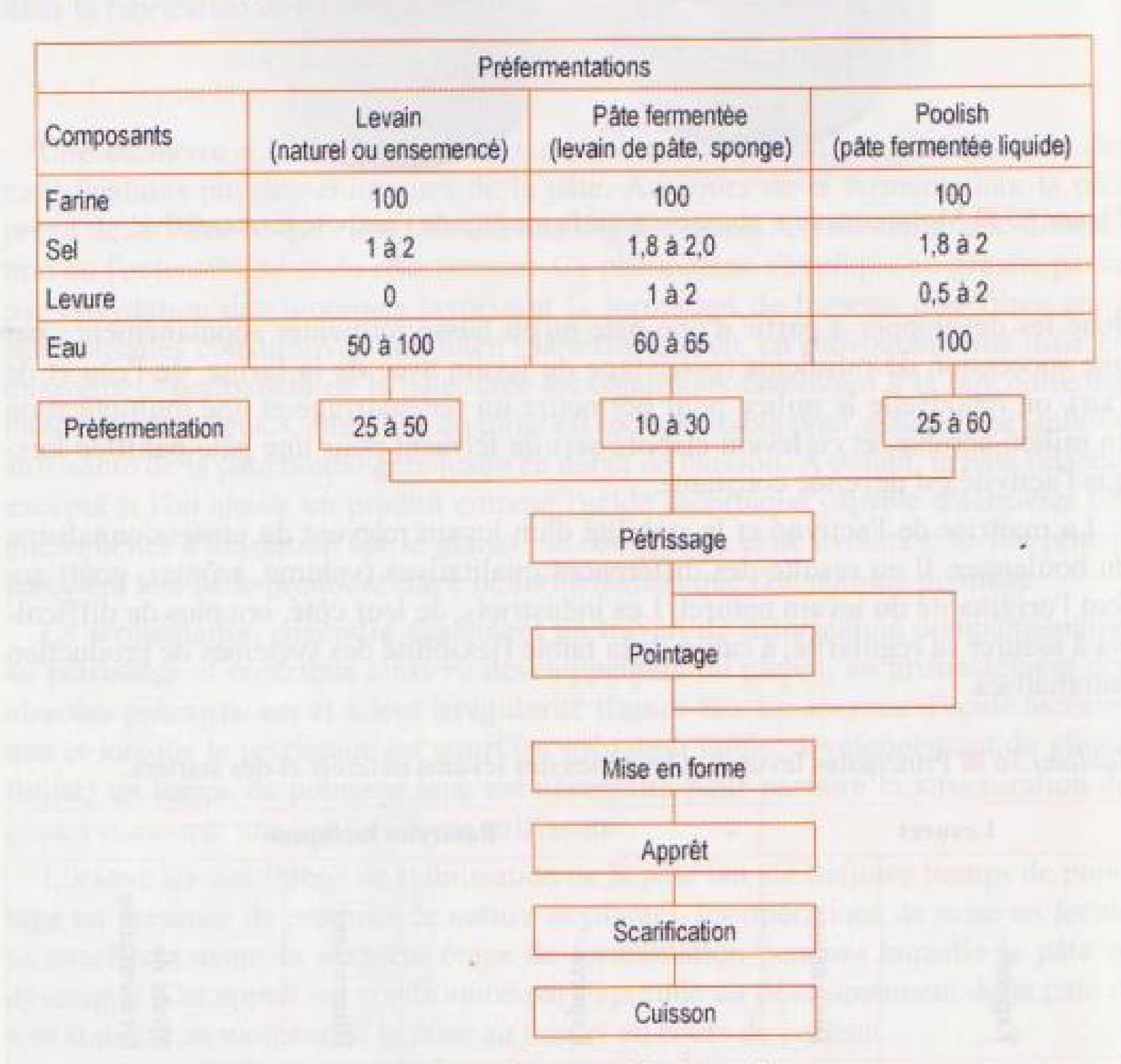
Tableau 36 ■ Principales levures et bactéries des levains naturels et des starters.

Levures		**Bactéries lactiques**		
Espèces	**Dimensions**	**Espèces**	**Dimensions**	**Mode de fermentation**
Saccharomyces cerevisiae *Saccharomyces exiguus* *Candida holmii* *Candida tropicalis* *Candida krusei*	10 µm à 50 µm	*Lactobacillus brevis* *Lactobacillus san francisco* *Lactobacillus buchneri* *Lactobacillus fermentum* *Lactobacillus casei* *Lactobacillus plantarum* *Pediococcus cerevisiae*	(qq µm)	hétérofermentaire hétérofermentaire hétérofermentaire hétérofermentaire homofermentaire homofermentaire homofermentaire

La diversité aromatique développée par les différentes voies fermentaires est obtenue lorsque l'on favorise l'action des différents micro-organismes présents dans la farine en privilégiant des durées de fermentation longues assurées par des doses raisonnables de levures de boulangerie.

3.2.3.3. Diagrammes de fermentation

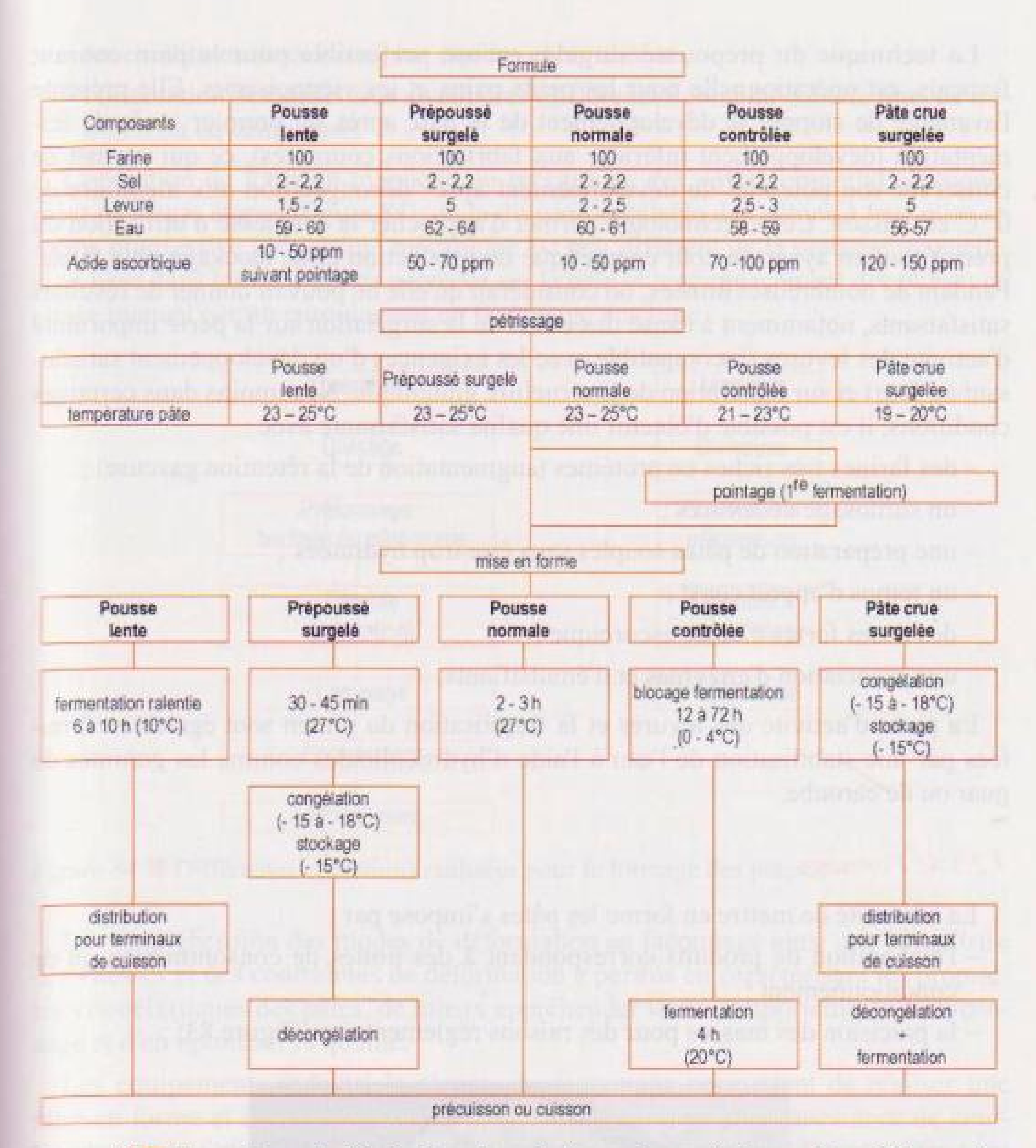
Le procédé de préfermentation conduisant à l'élaboration d'un levain « naturel » étant très contraignant, on lui préfère des préfermentations initiées avec un peu de levure (figure 81) ou des bactéries lactiques autorisées (starters). Ces cultures, bien que produisant moins d'arômes et d'acidité que les levains naturels, contribuent néanmoins à une amélioration de la qualité organoleptique par rapport à un ensemencement direct par la levure.



Préfermentations			
Composants	Levain (naturel ou ensemencé)	Pâte fermentée (levain de pâte, sponge)	Poolish (pâte fermentée liquide)
Farine	100	100	100
Sel	1 à 2	1,8 à 2,0	1,8 à 2
Levure	0	1 à 2	0,5 à 2
Eau	50 à 100	60 à 65	100
Préfermentation	25 à 50	10 à 30	25 à 60

Figure 81 ■ Fabrication du pain français avec préfermentations.

La conduite des préfermentations, plus contraignantes qu'une fermentation directe, peut être maîtrisée grâce à l'utilisation du froid dont les applications sont apparues aux différents stades de la fabrication du pain, notamment en deuxième fermentation de la panification dite apprêt (figure 82). La réfrigération permet des temps de report de 12 à 72 h et l'arrêt de la fermentation par congélation de la pâte



Composants	Pousse lente	Prépoussé surgelé	Pousse normale	Pousse contrôlée	Pâte crue surgelée
Farine	100	100	100	100	100
Sel	2 - 2,2	2 - 2,2	2 - 2,2	2 - 2,2	2 - 2,2
Levure	1,5 - 2	5	2 - 2,5	2,5 - 3	5
Eau	59 - 60	62 - 64	60 - 61	58 - 59	56-57
Acide ascorbique	10 - 50 ppm suivant pointage	50 - 70 ppm	10 - 50 ppm	70 -100 ppm	120 - 150 ppm

	Pousse lente	Prépoussé surgelé	Pousse normale	Pousse contrôlée	Pâte crue surgelée
température pâte	23 – 25°C	23 – 25°C	23 – 25°C	21 – 23°C	19 – 20°C

Figure 82 ■ Synoptique de fabrication du pain français en pétrissage intensifié par fermentation directe à la levure à basse température.

après le façonnage permet sa conservation pendant quelques semaines à quelques mois. Ce procédé offre la possibilité de vendre le produit à des acheteurs qui ne sont pas boulangers mais qui possèdent un magasin où s'opèrent la cuisson et la vente. Cette technique a notamment permis l'exportation du pain français.

La surgélation amène le boulanger à prendre un certain nombre de précautions qui peuvent diminuer la prise de force et impliquer l'utilisation d'acide ascorbique. L'endommagement de la structure gluténique semble d'autant plus forte qu'elle aura été développée par voie de fermentation avant congélation et que l'hydratation aura été poussée. La structure alvéolaire des pâtes congelées est plus irrégulière et les parois plus épaisses.

La technique du prépoussé surgelé, encore perfectible pour le pain courant français, est opérationnelle pour les petits pains et les viennoiseries. Elle présente l'avantage de stopper le développement de la pâte après un premier stade de fermentation (développement inférieur aux fabrications courantes), ce qui permet de conserver son potentiel de développement après décongélation aux alentours de 0 °C et cuisson. Cette technologie permet d'approcher la souplesse d'utilisation du précuit tout en ayant un coût énergétique de production et de stockage plus faible. Pendant de nombreuses années, on considérait qu'elle ne pouvait donner de résultats satisfaisants, notamment à cause des effets de la surgélation sur la perte importante d'activité des levures (incompatible avec les exigences d'un développement satisfaisant au four) et sur l'altération de la structure gluténique. Néanmoins dans certaines conditions, il est possible d'obtenir une qualité satisfaisante avec :

– des farines très riches en protéines (augmentation de la rétention gazeuse) ;
– un surdosage de levures ;
– une préparation de pâtes souples sans être trop hydratées ;
– un temps d'apprêt court ;
– des doses fortes d'acide ascorbique ;
– une association d'enzymes et d'émulsifiants.

La perte d'activité des levures et la fragilisation du gluten sont également limitées par une stabilisation de l'eau à l'aide d'hydrocolloïdes comme les gommes de guar ou de caroube.

3.2.3.4. Formage

La nécessité de mettre en forme les pâtes s'impose par :

– l'élaboration de produits correspondant à des unités de consommation ou de conditionnement ;
– la précision des masses pour des raisons réglementaires (figure 83) ;



Figure 83 ■ Division mécanique par grille.

– le développement de forme esthétique et attractive (aspect marketing) ;
– l'élaboration de petits formats facilitant le travail jusqu'au conditionnement des produits cuits ;

– les conditions de cuisson plus rapides et régulières ;
– l'orientation des structures alvéolaires (différences entre du pain de mie, de tradition ou de campagne).

L'opération de formage manuelle ou mécanique des pâtes comprend classiquement plusieurs étapes (figure 84), de la division préalable des pâtons à leur mise en forme progressive ; le schéma mécanique est peu différent de la pratique manuelle, si ce n'est dans les contraintes exercées sur la pâte et le remplacement des phases de pliage manuel par un enroulement en façonnage machine.



Figure 84 ■ Différentes opérations réalisées pour le formage des pâtes.

La compréhension des modes de déformation au façonnage ainsi que la maîtrise des vitesses et des contraintes de déformation a permis en caractérisant les propriétés viscoélastiques des pâtes, de mieux appréhender leurs comportements au façonnage et d'en optimiser la qualité.

Les équipements industriels récents de façonnage permettent de réaliser une mise en forme et un allongement progressif des pâtes, en alternance avec de courtes phases de repos (relaxation) suffisantes pour provoquer des déformations sans risques de déchirement. Cette diminution des contraintes dans la pâte permet une meilleure régularité alvéolaire sans dégazage excessif. L'enchaînement d'opérations plus nombreuses mais plus courtes permet également une augmentation des débits et une diminution des durées du début de la division à la fin du façonnage, tout en assurant la mise en forme de pâte de grandes longueurs et de faibles sections. L'introduction de systèmes de calibrage et de centrage sur les lignes automatiques de fabrication assure une très bonne régularité de longueur et de section.

3.2.3.5. Cuisson

La cuisson résulte d'un échange de chaleur entre l'atmosphère du four et le produit. L'énergie peut être transférée par conduction et/ou convection. Sous l'action de la chaleur se produisent une expansion et une transformation physico-chimique de la pâte (coagulation des protéines, gélatinisation de l'amidon pour les pâtes hydra-

tées, réactions de Maillard et de caramélisation). Ces modifications déterminent la qualité organoleptique, l'aptitude à la conservation et la digestibilité qui dépendent des conditions et de la conduite de cuisson.

Parmi ces transformations, il est essentiel de maîtriser l'expansion de la pâte pour obtenir des structures légères, moelleuses ou friables. Les facteurs qui entrent dans ce processus ont déjà été décrits : production et expansion des gaz, élasticité de la pâte et résistance à la déformation, aptitude à retenir les gaz. À ces phénomènes s'ajoute une phase de dessiccation pendant laquelle l'eau en cours d'évaporation permet de maintenir dans la mie une température voisine de 100 °C. Dans le cas d'une précuisson, le niveau de déshydratation est faible ; en revanche, la maîtrise de l'humidité résiduelle est importante au cours de la cuisson finale car elle conditionne le déroulement de la réaction de Maillard et les caractéristiques sensorielles du pain. La précuisson permet de stopper le processus de fabrication à un stade où le pain peut être stabilisé par conservation à température ambiante ou stabilisation sous gaz neutre (précuit frais) ou par congélation (précuit surgelé), tout en assurant après la cuisson finale les caractéristiques qualitatives d'un pain cuit.

L'appréciation de la qualité de la cuisson peut être effectuée par le boulanger de manière sensorielle (couleur, croustillant, résonance du pain) et par pesée (évaluation de la perte en eau). L'instrumentation des fours industriels par des capteurs assurant la mesure de l'humidité et de la couleur permet d'automatiser la conduite de la cuisson.

Des systèmes de cuisson par convection avec comme support de pâte des filets se sont largement développés aussi bien en artisanat avec les fours rotatifs qu'en industrie avec les fours tunnels. Malgré tout, on constate avec le développement du pain de tradition française issu de pâtes hydratées non stabilisées avant cuisson que le four à sole est mieux adapté à cause des transferts de chaleur par conduction. Les transferts de pâte sur un tapis ou une pelle, nécessaires bien que contraignants avec ce type de four (figure 85), sont de plus en plus intégrés dans la conception de nouveaux fournils visibles par les consommateurs. En industrie, le développement de fours tunnels avec soles de pierre est significatif.

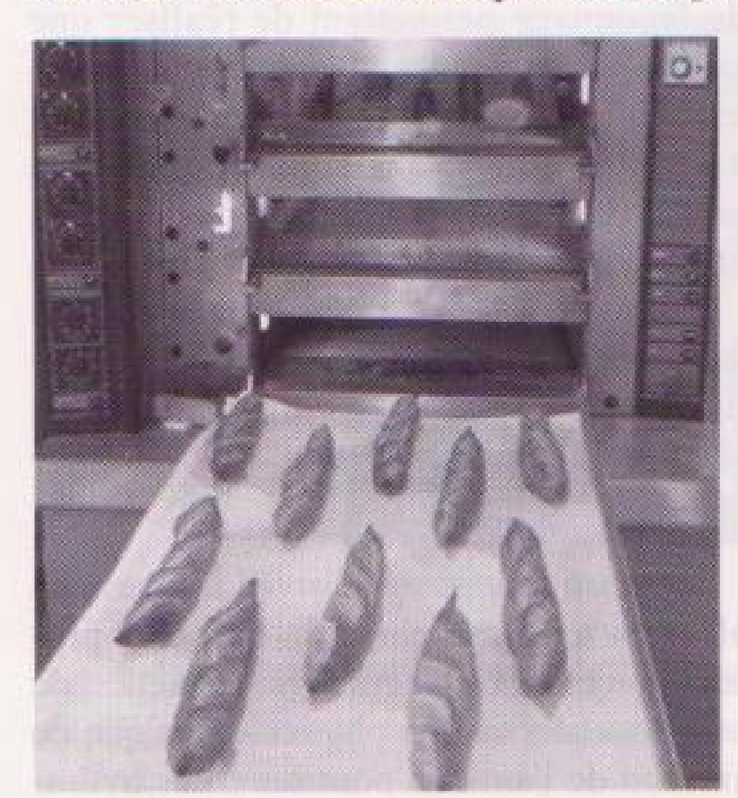


Figure 85 ■ Défournement du pain d'un four à sole.

3.3. Pastification

Sous le terme générique de pâtes nous pouvons décliner tout un ensemble de produits.

► PÂTES SÈCHES

Ces pâtes sont de petits formats (épaisseurs, surfaces) et souvent allongées, ce qui facilite leur séchage pour permettre leur conservation avant leur cuisson finale (figure 86). Elles sont consommées principalement dans des bouillons ou potages et composées majoritairement de semoules de blé dur.

► PÂTES FRAÎCHES

Consommées assez rapidement après leur fabrication, le séchage très limité a pour objectif d'assurer un minimum de tenue. Cuites à l'eau, elles servent de base ou de support à des préparations culinaires et sont notamment consommées farcies. Les pâtes fraîches sont composées de farine de blé tendre même si progressivement le blé dur s'impose. La fabrication de ces pâtes est artisanale et essentiellement manuelle : la brie, barre de bois fixée avec un système d'articulation à l'extrémité d'une table basse, est le seul appareil utilisé. La pâte préparée à la main et placée sur la table est travaillée par compression avec la barre. Les opérations de divisage et de façonnage qui suivent sont entièrement manuelles.

► PÂTES FARCIES

Entrent dans cette catégorie, les appellations « raviolis », « tortellini », etc. Les règles de commercialisation imposent pour la partie pâte l'utilisation exclusive de semoules de blé dur. Toutefois, ces obligations ne concernent pas les spécialités culinaires préparées par les traiteurs et les restaurateurs. La farce peut être constituée de viandes de porc, de veau, de bœuf, de volaille ou de mouton.

► COUSCOUS

Au plan réglementaire, le couscous est mal défini, et s'apparente pour ce qui est du « couscous non préparé » aux pâtes alimentaires. Le couscous, formé au départ d'un mélange de semoules de blé dur de différentes granulométries et d'eau, est roulé, cuit, séché, et tamisé. Le couscous commercial est un grain « de semoules » précuit qu'il suffit de réhydrater à l'eau tiède ou à l'eau chaude avant de le recuire à la vapeur dans un couscoussier.

Traditionnellement, la préparation de la graine de couscous se fait de la manière suivante : « Les femmes préparent la graine en la roulant à la main avec beaucoup de dextérité. Semoules de blé dur et farine sont placées dans un plat en bois ou en terre cuite, avec un peu d'eau froide salée ; en roulant la semoule, la farine s'agglutine progressivement autour de chaque grain. La graine obtenue est ensuite passée au tamis, ce qui permet de trier les grains selon leur grosseur. Cette opération terminée, la graine est prête pour la cuisson » (Larousse Gastronomique, 1984).

Les caractéristiques des pâtes fabriquées à partir de semoule de blé dur et d'eau sont présentées dans les tableaux 37 et 38 ; les aspects réglementaires relatifs à la

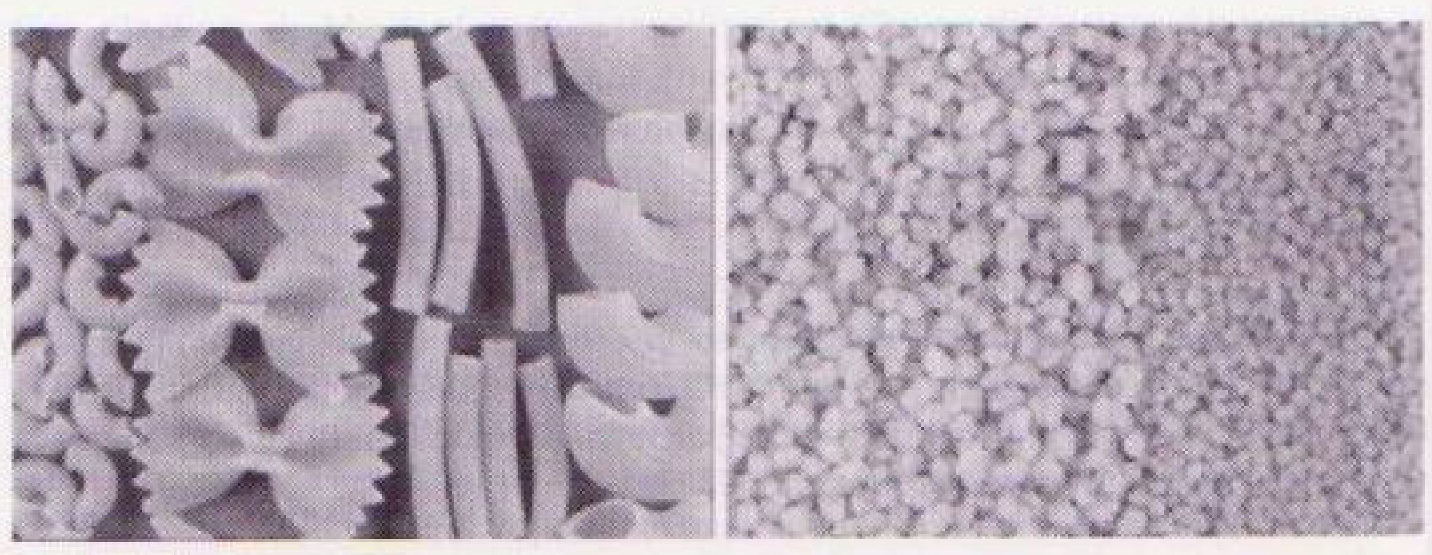


Figure 86 ■ Pâtes sèches et couscous.

préparation des pâtes alimentaires et à leur dénomination sont définis par le décret n° 55 1175 du 31 août 1955.

Tableau 37 ■ Types de semoules de blé dur.

« Semoule supérieure de blé dur » ou « semoule de blé dur de qualité supérieure »	SSS E	Taux de cendres maximum 0,80 % tolérance 10 % pourcentage ramené à la matière sèche)
« Semoule de blé dur » ou « semoule courante de blé dur »	SSS F	Taux de cendres maximum 1,30 %, tolérance 20 % (pourcentage ramené à la matière sèche)

Tableau 38 ■ Principales caractéristiques des pâtes de semoules de blé dur.

Caractéristiques qualitatives	Pâtes de qualité supérieure	Pâtes courantes
Taux de cendres (par rapport à la matière sèche)	Minimum : 0,55 % maximum : 0,80 % (tolérance 10 %)	Maximum : 1,30 % (tolérance 10 %)
Taux d'acidité (par rapport à la matière sèche)	≤0,05 %/MS (exprimé en acide sulfurique)	≤0,07 %/MS (exprimé en acide sulfurique)
Taux de protéines (par rapport à la matière sèche)	Minimum : 10,5 %	Minimum : 11 %
Taux d'humidité	Maximum : 12,5 % ; toutefois, ce maximum ne s'appliquera pas aux pâtes fraîches vendues sous cette dénomination	

3.3.1. *Valeur pastière*

Elle peut être définie par :

– l'aptitude des semoules ou farines à être transformées en pâtes (facilité de malaxage, de tréfilage — mise en forme au travers d'une filière — et de séchage) ;

– l'aspect des pâtes (couleur jaune homogène, brillante, de surface lisse) ;
– la plasticité des produits crus et cuits ;
– l'aptitude à la cuisson (absence de collant et de délitescence).

3.3.1.1. Aptitude des semoules de blé dur à être transformées en pâtes alimentaires

Actuellement il n'existe pas de grandes différences entre les blés disponibles sur le marché français, excepté si l'on est en présence de semoules de blés germés. Chaque année les nouvelles variétés de blés durs destinées aux semouliers et fabricants de pâte font l'objet d'études et d'observations dont les résultats permettent de les recommander soit de manière globale, soit pour certains critères qualité comme la couleur ou la ténacité.

3.3.1.2. Aspect visuel des pâtes

On recherche des pâtes de couleur jaune ambrée, de couleur brune minimale, sans piqûres, ni points blancs, non gercées, brillante et de surface lisse.

La couleur jaune est fortement influencée par la richesse en pigments lipidiques de type caroténoïdes, mais le dosage de ces pigments est insuffisant pour préjuger de l'intensité du « jaune » des pâtes alimentaires. En effet, la lipoxygénase présente dans les semoules risque en présence d'oxygène de provoquer en partie leur décoloration au cours de fabrication. Les conditions de pastification (empattage, pressage sous vide, conditions de séchage) peuvent ralentir ou accélérer ces réactions d'oxydation. L'incorporation au cours de la mouture de germes dans les semoules, entraîne une activité lipoxygénasique plus importante.

La couleur brune a une double origine :

– le brunissement est d'autant plus important que la teneur en protéines est élevée ; un excès d'azote en culture peut donc être préjudiciable. La présence de l'albumine, protéine naturellement colorée apparaîtrait comme un facteur complémentaire ;
– les polyphénoloxydases sont fortement impliquées dans le brunissement enzymatique. Les avancées de la génétique permettront d'obtenir des variétés à activité polyphénoloxydasique réduite.

L'indice de brun augmente avec le pourcentage d'extraction en semoules jusqu'à un maximum. Des températures élevées en début de séchage réduisent cette activité enzymatique et assurent une diminution de l'indice de brun.

Les gerçures résultent des effets de tensions trop fortes provoquées par une mauvaise conduite du séchage. Elles ont pour conséquences des cassures à l'emballage et une moins bonne tenue à la cuisson. L'aspect lisse et brillant recherché est principalement lié à la nature des filières des moules de la presse (téflon ou bronze plus ou moins usagé).

3.3.1.3. Résistance des pâtes crues

Dans le cas des pâtes crues la résistance à la rupture conditionne son aptitude à ne pas se briser lors des manipulations. Cette caractéristique est essentielle pour diminuer les pertes à l'empaquetage et pour présenter au consommateur des produits entiers et acceptables. Elle dépend des conditions de pastification et de la qualité intrinsèque des blés. À qualité de gluten sensiblement égale, la teneur en protéines influe sur la solidité des pâtes.

3.3.1.4. Aptitude à la cuisson et qualité des produits

Elles comprennent :

• Le *temps de cuisson*, qui peut être considéré comme le temps nécessaire pour gélatiniser totalement l'amidon. On peut l'apprécier en écrasant une pâte cuite entre deux plaques de verre et en observant le cœur de la pâte : la présence d'une ligne blanche ou de points blancs indique que la pâte n'est pas encore cuite à cœur (figure 87).

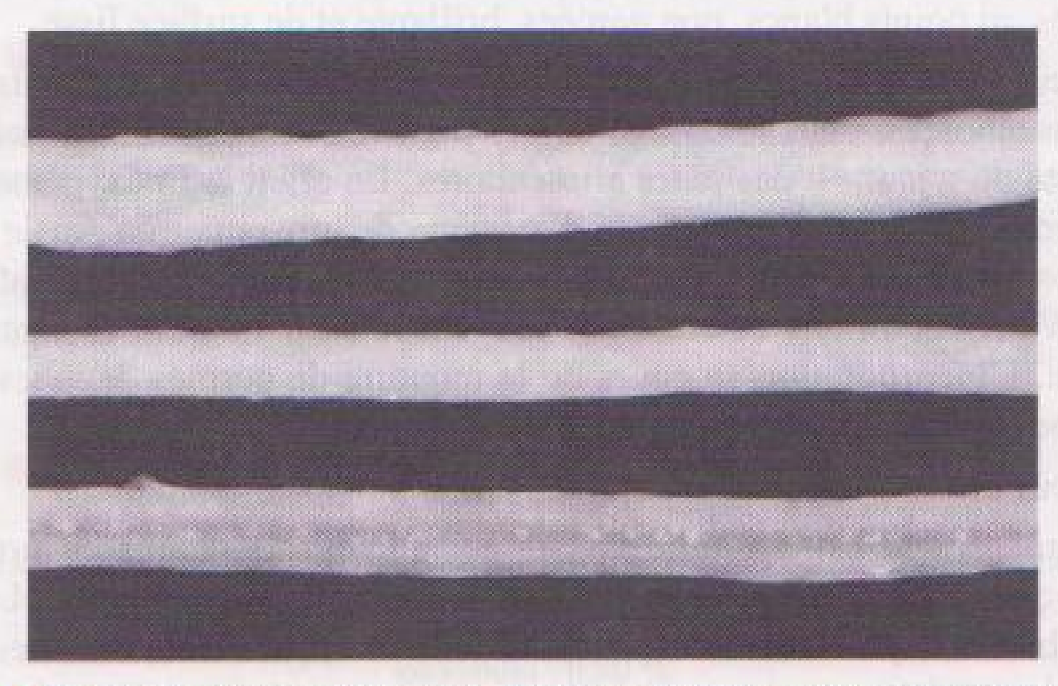
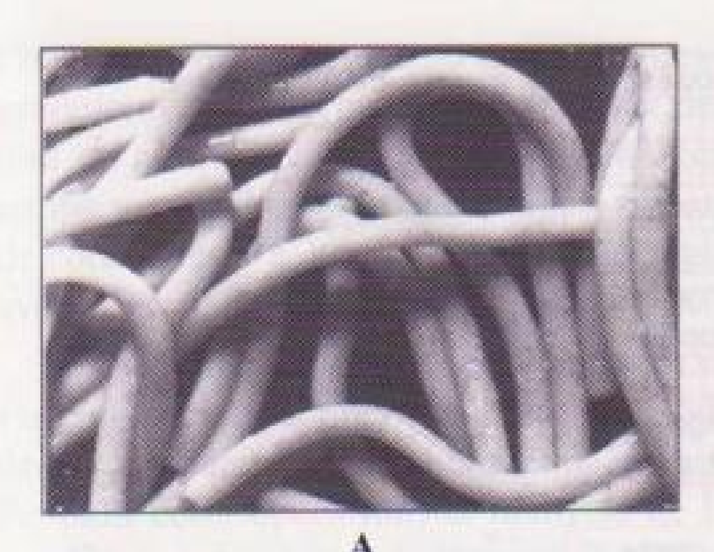
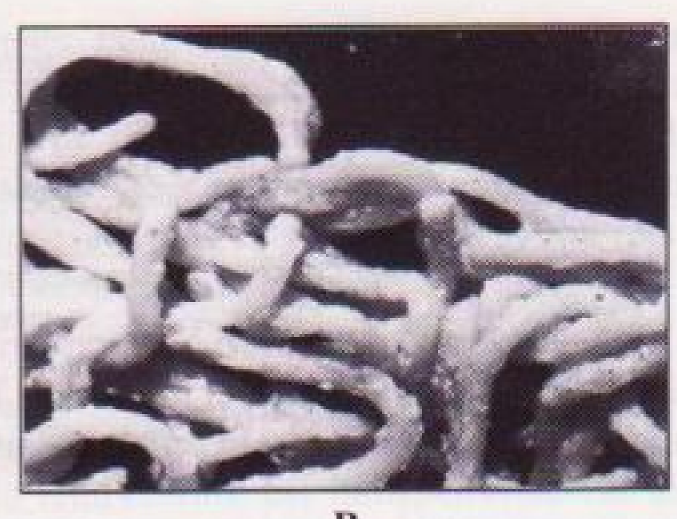


Figure 87 ■ Degré de cuisson des pâtes. De haut en bas : surcuisson, optimal, insuffisant.

Le temps minimal de cuisson pour des spaghettis français (∅ 1,5 mm) est de l'ordre de 8 à 9 min dans l'eau bouillante, pour obtenir des pâtes « *al dente* ». Le temps optimal de cuisson correspond aux caractéristiques optimales pour la consommation, et varie suivant les goûts. Il semble que l'écart entre le temps optimal et le temps minimal (de l'ordre de 2 à 5 min) soit d'autant plus élevé que la teneur en protéines est grande (pâtes aux œufs par exemple). Le temps maximal de cuisson est celui au-delà duquel la structure de la pâte se dégrade (figure 88) ; la différence avec le temps minimal rend compte de la résistance des pâtes à la surcuisson, et doit être aussi élevée que possible. On observe également une diminution de la couleur avec le temps de cuisson.

• Le *gonflement* ou absorption d'eau *pendant la cuisson* traduit des modifications importantes au niveau de la pâte (gélatinisation de l'amidon et coagulation des protéines), et se mesure en déterminant le poids des pâtes avant et après cuisson. En





A B

Figure 88 ■ Tolérance des pâtes à la cuisson. A : pâtes ayant une bonne tolérance à la cuisson ; B : pâtes collantes qui se délitent (mauvaise tolérance à la cuisson).
Photos : J Abecassis Inra.

général, 100 g de pâtes sèches fixent 160 g à 180 g d'eau après cuisson. Le pH joue un rôle important : il est optimal à une valeur de 6 (proche du pHi des protéines de la pâte), conditions dans lesquelles les pâtes se dilatent moins et sont moins collantes quelle que soit la variété de blé y compris en surcuisson. À pH 4 et 8, la qualité est moindre, et à pH 2 les pâtes ne gonflent pas.

• La *texture des produits cuits* est caractérisée par la fermeté ou résistance à la dent et par l'élasticité ; un spaghetti est d'autant plus résistant à la surcuisson que le temps de cuisson qu'il supporte sans perdre son élasticité est long.

• *L'état de surface des produits cuits* peut être simultanément ou non, collant ou délitescent. La délitescence (destruction de la structure de la pâte et évacuation de l'amidon dans l'eau de cuisson) est un défaut grave lorsqu'il apparaît dès le temps minimal de cuisson (influence très forte de l'origine des blés).

• Les caractéristiques sensorielles (arôme et goût) dépendent des conditions de séchage et de la qualité et quantité des protéines.

En résumé, les différences de qualité culinaire observées seraient dues à la plus ou moins grande aptitude des protéines à former, en cours de pastification, un filet capable d'insérer dans ses mailles les autres constituants. Les conditions de fabrication des pâtes (malaxage, compression, cisaillement) jouent un rôle non négligeable sur la qualité du réseau protéique formé. Un réseau protéique trop lâche laisse échapper les granules d'amidon formant un empois à la surface des pâtes qui deviennent alors collantes, voire délitescentes.

3.3.2. Conduites de pastification

3.3.2.1. *Pâtes*

La figure 89 présente les différentes voies technologiques industrielles de pastification.

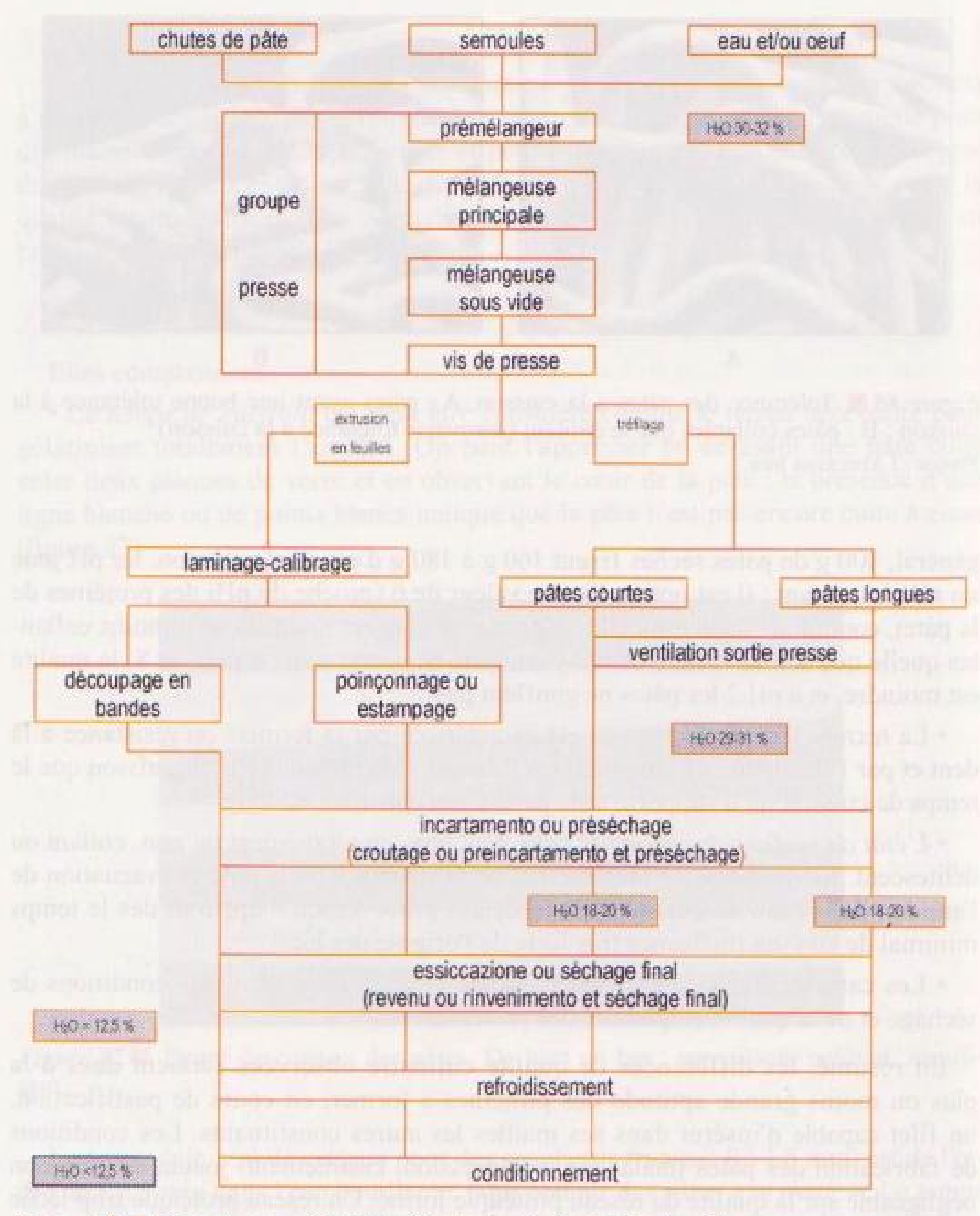


Figure 89 ■ Diagramme général de fabrication industrielle de pâtes.

▶ PRESSAGE

L'opération de pressage est précédée par les étapes d'hydratation et de mélange. L'hydratation doit être suffisante pour former un réseau gluténique au cours du pressage, sans être trop élevée car les pâtes deviendraient collantes et se déformeraient après tréfilage ; de plus un excès d'hydratation conduit à des durées et des coûts de séchage élevés. La fourchette d'hydratation est donc très étroite (de 30 à 33 %), et doit permettre au mélange d'être à un niveau de consistance ou « point de pâte » constant. La répartition de l'eau doit être la meilleure possible pour assurer

l'homogénéité de la pâte au cours du pressage. Pour répondre à cette exigence, une granulométrie de type semoule permet de limiter les liaisons entre ces constituants tout en assurant une répartition homogène de l'eau en surface des semoules. Le temps nécessaire pour que chaque semoule puisse s'humidifier en profondeur est de l'ordre de 15 à 20 min dans les mélangeuses les plus courantes. Il peut être réduit avec des mélangeuses rapides et avec des semoules plus fines.

Les semoules hydratées et mélangées sont progressivement compressées dans la vis d'extrusion, la pression atteignant son maximum (10 MPa) au niveau de la tête de vis ; la pâte devient plus homogène et la structure gluténique devient continue. Pendant cette opération, la maîtrise de la température est indispensable car elle conditionne la viscosité, les activités enzymatiques résiduelles, et la régularité de la structure amidon-protéines (gélatinisation, coagulation). En tête de presse, la configuration géométrique des filières permet la création de différents formats de pâtes.

▶ SÉCHAGE

On distingue généralement deux phases principales :

- le préséchage ou *incartamento* (donner la consistance du carton) permet d'éliminer 30 (pâtes courtes) à 40 % (pâtes longues) de l'eau contenue dans la pâte en un minimum de temps, variable en fonction du format et de la température. L'évaporation dans cette phase de séchage est irrégulière, les parties périphériques étant plus sèches que l'intérieur, ce qui assure une texture de carton. Ce dessèchement de surface évite le collage. Le raffermissement qui en résulte permet d'améliorer la stabilité de la forme de la pâte pour éviter l'aplatissement ou l'allongement ;
- le séchage final (définitif) ou *essiccazione* doit être progressif avec éventuellement une alternance de séchage et de rééquilibrage d'humidité (*rinvenimento*), qui permet d'éviter des contractions importantes entraînant gerçures, fêlures ou ruptures de pâte, notamment à basse température (70-75 °C). Dans le cas des hautes températures (90-110 °C), la diffusion de l'eau au travers de la pâte est plus forte et la pâte garde son état plastique jusqu'à des humidités voisines de 12 % ; il n'y a donc pas besoin de *rinvenimento*.

Le *séchage discontinu* s'effectue sur des chariots statiques à châssis (pâtes courtes) ou à cannes (pâtes longues). Un apport d'air chaud de quelques degrés supérieurs à la température extérieure est nécessaire (35-40 °C pour l'*incartamento*, 20-25 °C pour le séchage définitif). La cinétique d'évaporation est variable suivant les formats (durée moyenne 24-72 h à 30-40 °C, H_R 50-70 %).

Le *séchage continu* consiste à assurer le déplacement des pâtes dans le séchoir (figure 90), constitué de zones actives de ventilation et de zones non actives. On distingue trois types de séchage :

- le séchage à basse température (BT) à 40-60 °C pendant 10 à 20 h ;
- le séchage à haute température (HT) à 60-80 °C pendant 4 à 10 h ;
- le séchage à très haute température (THT) à 90-130 °C pendant 1 h 30 à 2 h 30.

La technique la plus récente est le séchage THT qui présente comme avantages :

– une augmentation de l'indice de jaune et une diminution de l'indice de brun par inactivation à partir de 70 °C de la lipoxygénase et des polyphénoloxydases ;
– une meilleure stabilité des pâtes par modification physico-chimique des protéines (insolubilisation) qui diminue les différences qualitatives dues à l'influence variétale ;
– une perte en vitamines A, B_1, B_6 et D inférieure par rapport au séchage HT et BT ; cependant, l'augmentation des réactions de Maillard diminue la disponibilité de la lysine qui est déjà limitante dans les céréales.



Figure 90 ■ Entrée d'un séchoir pour pâte longue.

Tableau 39 ■ Principales caractéristiques des pâtes de semoules de blé dur.

	Couscous courant			**Couscous supérieur**		
	Gros	**Moyen**	**Fin**	**Gros**	**Moyen**	**Fin**
Granulométrie en µm		1 000 à 1 800	500 à 1 250		1 000 à 1 800	500 à 1 250
Taux d'humidité	< 12,5 %			< 12,5 %		
Taux de cendres	1 à 1,3 %			0,9 à 1,1 %		
Taux de protéines	> ou = à 12 %			> ou = à 12 %		
Taux d'acidité	< 0,06 %/MS			< 0,06 %/MS		
Indice de gonflement (NF 50.001)	> 220			> 220		
Capacité ou vitesse de réhydratation	Absence de grains durs après un temps d'hydratation			Absence de grains durs après un temps d'hydratation		

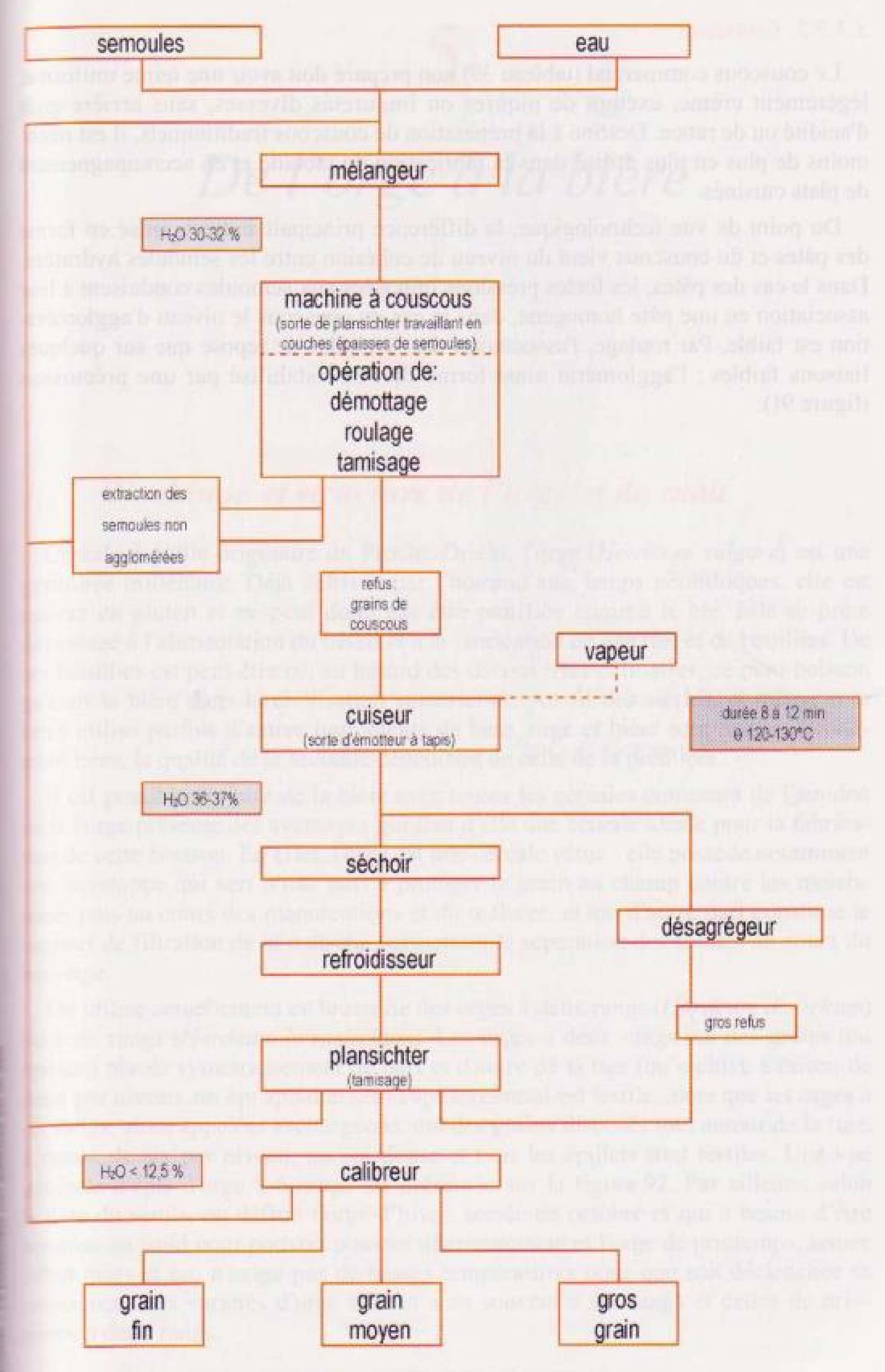


Figure 91 ■ Diagramme de fabrication industrielle de couscous.

3.3.2.2. Couscous

Le couscous commercial (tableau 39) non préparé doit avoir une teinte uniforme, légèrement crème, exempt de piqûres ou impuretés diverses, sans arrière-goût d'acidité ou de rance. Destiné à la préparation de couscous traditionnels, il est néanmoins de plus en plus utilisé dans la fabrication du taboulé et en accompagnement de plats cuisinés.

Du point de vue technologique, la différence principale entre la mise en forme des pâtes et du couscous vient du niveau de cohésion entre les semoules hydratées. Dans le cas des pâtes, les fortes pressions imposées aux semoules conduisent à leur association en une pâte homogène, dans le cas du couscous le niveau d'agglomération est faible. Par roulage, l'association des semoules ne repose que sur quelques liaisons faibles ; l'agglomérat ainsi formé doit être stabilisé par une précuisson (figure 91).

5

De l'orge à la bière

1. Biochimie et structure de l'orge et du malt

Céréale à paille originaire du Proche-Orient, l'orge (*Hordeum vulgare*) est une graminée millénaire. Déjà cultivée par l'homme aux temps néolithiques, elle est pauvre en gluten et ne peut donc pas être panifiée comme le blé. Elle se prête davantage à l'alimentation du bétail et à la fabrication de galettes et de bouillies. De ces bouillies est peut-être né, au hasard des découvertes culinaires, ce pain-boisson qu'était la bière dans la civilisation sumérienne. Au fil des siècles, et même si la bière utilise parfois d'autres ingrédients de base, orge et bière sont restées étroitement liées, la qualité de la seconde dépendant de celle de la première.

Il est possible de faire de la bière avec toutes les céréales contenant de l'amidon mais l'orge présente des avantages qui font d'elle une céréale idéale pour la fabrication de cette boisson. En effet, l'orge est une céréale vêtue : elle possède notamment une enveloppe qui sert d'une part à protéger le grain au champ contre les moisissures puis au cours des manutentions et du maltage, et qui d'autre part constitue le support de filtration de la maïsche permettant la séparation des solides au cours du brassage.

On utilise actuellement en brasserie des orges à deux rangs (*Hordeum distichum*) ou à six rangs (*Hordeum hexastichum*). Les orges à deux rangs ont des grains (ou épillets) placés symétriquement de part et d'autre de la tige (ou rachis), à raison de deux par niveau, un épi aplati et seul l'épillet central est fertile, alors que les orges à six rangs, aussi appelées escourgeons, ont des grains disposés tout autour de la tige, à raison de six par niveau, un épi dense et tous les épillets sont fertiles. Une vue générale d'épis d'orge à 6 rangs est présentée sur la figure 92. Par ailleurs, selon la date du semis, on définit l'orge d'hiver, semée en octobre et qui a besoin d'être soumise au froid pour pouvoir pousser ultérieurement et l'orge de printemps, semée début mars et qui n'exige pas de basses températures pour que soit déclenchée sa croissance. Les variétés d'orge d'hiver sont souvent à six rangs et celles de printemps à deux rangs.



Figure 92 ■ Vue générale d'épis d'orge à 6 rangs (J. Barloy, Agrocampus Rennes).

1.1. Morphologie du grain d'orge

Le grain comporte plusieurs parties distinctes (figure 93) :

– *l'embryon* : siège des activités vitales de la graine ;

– *l'albumen amylacé* : tissu de réserve de l'orge contenant des granules d'amidon et des protéines de réserve ;

– les *assises successives* limitant l'embryon et l'albumen : le péricarpe et la testa soudés et des enveloppes appelées glumelles.

1.2. Composition biochimique de l'orge

Chaque partie du grain d'orge se caractérise par une composition biochimique particulière :

– le péricarpe est composé majoritairement de cellulose (20 %) mais il contient également 6 % de protéines, 2 % de cendres, 0,5 % de lipides et de pentosanes ;

– la composition de la testa est essentiellement lipidique ;

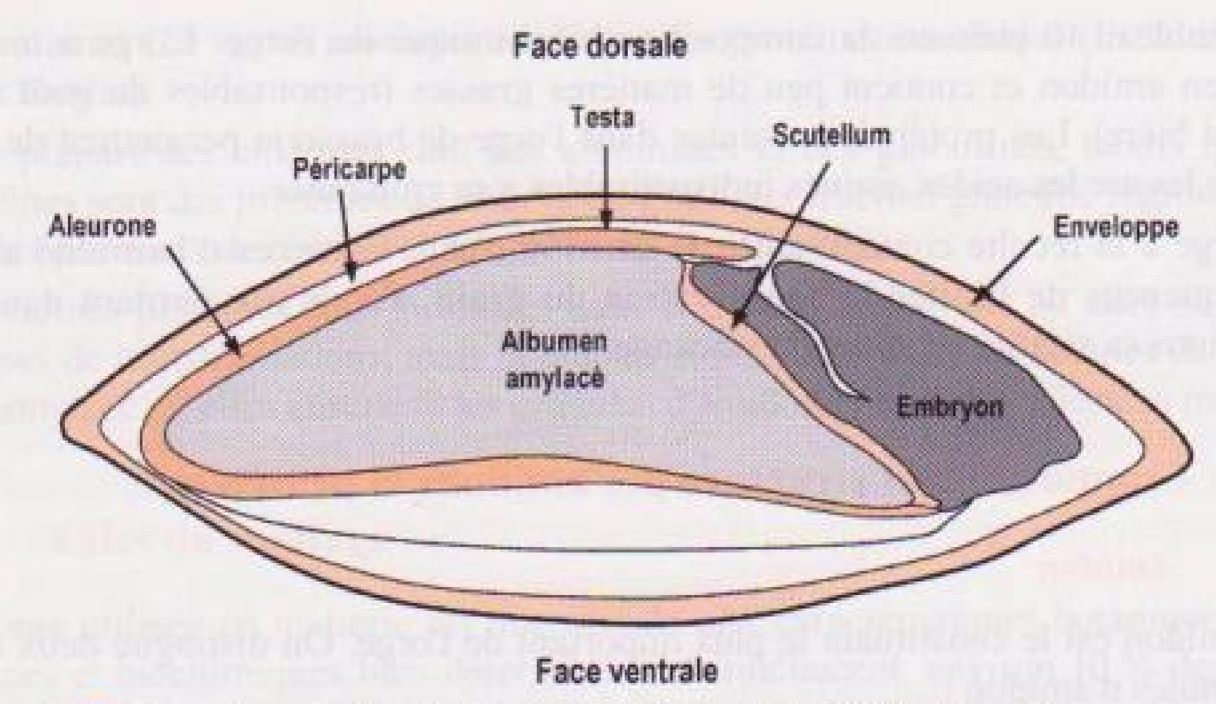


Figure 93 ■ Coupe longitudinale d'un grain d'orge (d'après Carlsberg).

– la couche à aleurone renferme dans sa partie la plus externe de l'amidon et des protéines et dans sa partie interne, des lipides (30 %), des protéines (20 %), de l'acide phytique, de la vitamine B, de la cellulose et des pentosanes ;
– l'albumen est constitué de 65 % d'amidon, de 7 à 12 % de protéines, de 6 à 8 % de matériels cellulosiques dans les parois cellulaires (70 % de β-glucanes, 20 % de pentosanes, 5 % de protéines, 2 % de glucomannanes, 2 % de cellulose, 0,5 % d'acides phénoliques et 0,5 % d'acides uroniques) et de 2 à 3 % de lipides.

Tableau 40 ■ Constituants biochimiques de l'orge (% de matière sèche).

Glucides	**78-83**
Amidon	63-65
Saccharose	1-2
Sucres réducteurs	1
Autres sucres	1
Pentosanes	8-10
β-glucanes	3-5
Protéines	**9-12**
Albumines	1,5-1,9
Globulines	0,4-0,5
Hordéines	0,9-1,2
Glutélines	3-4
Acides aminés et peptides	0,5
Lipides	**2-3,5**
Acides nucléiques	**0,2-0,3**
Substances minérales	**2**
Polyphénols	**0,5-1,5**
Autres substances	**4-6**

Le tableau 40 présente la composition biochimique de l'orge. L'orge a un taux élevé en amidon et contient peu de matières grasses (responsables du goût rance dans la bière). Les protéines présentes dans l'orge de brasserie permettent de fournir à la levure les acides aminés indispensables à sa croissance.

L'orge à la récolte contient entre 11 et 16 % d'eau. Un excès d'humidité a pour conséquences de limiter la conservation du grain, l'embryon perdant dans ces conditions sa vitalité au cours du stockage.

1.3. Composition et structure des amidons et protéines

1.3.1. Amidon

L'amidon est le constituant le plus important de l'orge. On distingue deux types de granules d'amidon :

- d'une part, les gros granules de diamètre compris entre 10 et 25 µm, qui représentent 10 % du nombre des granules d'amidon et 90 % du poids de l'amidon ; ils ont une température d'empesage de 61-62 °C ;
- d'autre part, les petits granules d'amidon, de diamètre compris entre 1 et 5 µm, qui représentent 90 % du nombre des granules d'amidon et 10 % du poids ; ils ont une température d'empesage de 75-80 °C (Henry, 1988).

La température d'empesage est la température à laquelle le granule d'amidon gonfle et s'hydrate, ce qui permet aux enzymes d'agir et notamment de l'hydrolyser en sucres fermentescibles (glucose, maltose, maltotriose) et en α-dextrines.

L'amidon est constitué de 25 % d'amylose et de 75 % d'amylopectine. L'amylose est un polymère linéaire de 500 à 2 500 unités glucoses liées par des liaisons α(1-4). Quant à l'amylopectine, c'est une chaîne ramifiée de 10 000 à 100 000 unités glucoses liées par des liaisons α(1-4) et α(1-6), les chaînes comportant de 20 à 25 unités de glucose entre chaque ramification.

Les autres polysaccharides sont essentiellement les constituants des parois cellulaires (polysaccharides pariétaux) et regroupent les β-glucanes et les pentosanes (ou arabinoxylanes). Les β-glucanes sont constitués d'unités glucoses liées par des liaisons α(1-4) et α(1-3). Dans les parois cellulaires, les β-glucanes, polymères insolubles, sont associés avec des peptides et d'autres composés. Les pentosanes ou arabinoxylanes sont des polymères renfermant des pentoses (C5) dont le xylose qui peut être substitué par l'arabinose. En général, plus la molécule est substituée, plus la solubilité est grande.

1.3.2. Protéines

Les orges brassicoles sont caractérisées par des taux en matières azotées (protéines, polypeptides, peptides et acides aminés) de 9 à 12 %. Parmi les protéines de l'orge, on distingue les albumines (16 % des protéines totales) solubles dans l'eau, les globulines (4 % des protéines totales) solubles dans les solutions salines, les prolamines ou hordéines (10 % des protéines totales) solubles dans les solutions alcooliques, les glutélines (33 % des protéines totales) solubles dans la soude, les

gel-protéines (20 % des protéines totales) et les protéines insolubles (18 % des protéines totales).

La plupart des enzymes sont des albumines et des globulines, tandis que les hordéines sont des protéines de réserve du grain. La fraction glutéline regroupe à la fois des protéines de réserve et des protéines de structure.

Certaines protéines sont localisées dans la couche à aleurone où elles ne subissent pas de transformations, mais la plupart sont situées dans les cellules de l'albumen amylacé où elles enserrent les granules d'amidon et sont dégradées au maltage.

1.4. Effet du maltage

L'orge utilisée en malterie est une céréale aux caractéristiques botaniques, biologiques et biochimiques bien déterminées. Actuellement, environ 10 % des orges récoltées sont transformés en malt. Les malts sont utilisés dans le monde entier et sont des matières premières essentielles pour la fabrication de boissons alcoolisées (bière, whisky) et de certaines denrées alimentaires car ils apportent des sucres fermentescibles et des enzymes. La majeure partie des malts est produite à partir de l'orge mais il est possible de produire du malt à partir de blé, de seigle, d'avoine, de triticale, de maïs, de sorgho ou de riz. La transformation de l'orge en malt se fait en trois grandes étapes : la trempe, la germination et le touraillage.

1.4.1. Objectifs du maltage

Le maltage, qui consiste en une germination contrôlée de l'orge, a un rôle très important car celui-ci n'est pas utilisable directement en brasserie, les substrats azotés et carbonés n'étant pas dans un état favorable au bon déroulement de la fermentation alcoolique.

On effectue tout d'abord un nettoyage pour débarrasser l'orge de ses impuretés, puis un calibrage afin de ne conserver que les grains entiers et d'une certaine taille. La trempe lève l'état de dormance du grain d'orge et fournit à l'embryon les conditions d'humidité et de température nécessaires à la germination. Lors de celle-ci, la couche à aleurone produit les enzymes nécessaires à la modification du grain (α-amylase, β-glucanase, pentosanase, protéase). Le développement dans le grain de ce potentiel enzymatique permet la transformation de l'albumen amylacé nécessaire lors du brassage ultérieur et la libération d'une quantité optimale de sucres pour la levure. Le touraillage, dernière opération mise en œuvre, permet de stabiliser le malt en bloquant l'activité biologique. Elle consiste en un séchage qui ramène l'humidité du grain de 45 % à 2 à 5 %. Suivant la quantité de chaleur apportée, on obtiendra un malt plus ou moins coloré, le touraillage s'apparentant à une torréfaction du malt. Ainsi, le maltage donne au grain la friabilité nécessaire pour son utilisation ultérieure en brasserie, améliore la fermentescibilité et contribue aux caractéristiques sensorielles de la bière (arômes et couleur).

1.4.2. *Trempe*

▶ OBJECTIFS DE LA TREMPE

La trempe constitue l'étape la plus délicate du procédé. L'embryon est exposé à une humidité et une température lui permettant de passer à une vie active et de déclencher la germination. Une succession de périodes de sous-air et de sous-eau permet au grain d'acquérir un taux d'humidité d'environ 45 %, en évitant l'asphyxie de l'embryon. Cette humidité est nécessaire à la germination. Le piquage de l'orge doit être déclenché pour faciliter la germination et assurer l'absorption éventuelle d'additifs. La trempe marque le démarrage des synthèses et réactions enzymatiques qui se poursuivront pendant la germination.

▶ ÉVOLUTION DE LA GRAINE AU COURS DE LA TREMPE

Les conditions de trempe dépendent de la nature de l'orge utilisée (variété, taille, teneur en protéines, etc.). Les orges se distinguent par la quantité d'eau qui leur est nécessaire pour germer. Mais en général, l'humidité requise varie de 42 à 46 %. L'hydratation du grain doit répondre aux besoins en eau de la couche à aleurone, à la fois pour la production des enzymes et pour leur migration à travers l'albumen. De plus, la quantité d'eau absorbée par le grain doit permettre une modification homogène des tissus tout en minimisant la croissance et la respiration de l'embryon.

L'entrée d'eau est ralentie par les couches externes imperméables du grain, plus précisément par le péricarpe. Après les premières heures de trempe, la répartition de l'humidité dans le grain est homogène. Les enveloppes gorgées d'eau laissent pénétrer celle-ci par diffusion vers l'albumen et préférentiellement dans la région embryonnaire. Une abrasion ou une scarification du péricarpe facilite l'imbibition.

L'orge a également besoin d'oxygène pour éviter l'asphyxie de l'embryon. Mais la pénétration de l'oxygène ne peut pas se faire lorsque le grain est plongé dans l'eau durant un temps prolongé. C'est pourquoi les malteurs appliquent entre chaque immersion une période de sous-air.

Durant la trempe, certaines matières sont dissoutes dans l'eau. Une des membranes qui entoure l'albumen, la testa, fonctionne comme une paroi semi-perméable et empêche la pénétration des sels de l'eau dans l'albumen. L'action dissolvante se limite donc aux enveloppes. Pendant la trempe, l'orge perd de 0,6 à 1,5 % de sa matière sèche, en grande partie au cours des six premières heures. Les substances dissoutes sont de nature diverse : tannins, matières azotées, gomme, sucres, matières minérales.

1.4.3. *Germination*

▶ OBJECTIFS DE LA GERMINATION

La germination a pour objectif de produire autant de substrats extractibles que possible en provoquant la désagrégation de l'albumen grâce à la synthèse et à la distribution des enzymes dans le grain. Sous l'action de gibbérellines produites par l'embryon, la couche à aleurone synthétise les différentes enzymes nécessaires à

l'hydrolyse de l'amidon (amylases), des protéines (protéases) et des parois cellulaires (β-glucanases).

▶ ÉVOLUTION DE LA GRAINE EN COURS DE GERMINATION

La germination s'accompagne d'une série de transformations liées au développement de l'embryon, c'est-à-dire la synthèse de nouveaux tissus, la respiration et la croissance de la plumule et des radicelles. L'embryon a besoin pour cela de substances de croissance (matières azotées, glucidiques et minérales) et de substances énergétiques (glucides, lipides), qui sont puisées dans les réserves de l'albumen. Ces réserves sont solubilisées à partir de l'albumen par l'action d'enzymes synthétisées au niveau du scutellum et qui diffusent jusqu'à l'albumen. Les protéines de réserve du grain sont hydrolysées en polypeptides, peptides et acides aminés. La libre circulation des substances nutritives nécessaires à l'embryon conduit à sa croissance et des radicelles se forment rapidement. On dit que le grain « se pique ». Ce phénomène intervient dès la fin de la trempe et au premier jour de la germination. Les radicelles « fourchent » au troisième jour. Parallèlement, la plumule se développe sous les enveloppes et si la germination dure trop longtemps, la plumule sort du grain qui est alors appelé *hussard*.

Le complexe β-glucanase-pentosanase modifie le réseau de membranes cellulosiques qui perd de sa rigidité. Les protéines matricielles sont alors hydrolysées, ce qui permet la libération des granules d'amidon qui sont superficiellement corrodés par les amylases. Il apparaît des zones de moindre résistance dans la substance interstitielle qui s'ouvre entre les grains d'amidon ; c'est la désagrégation. Cette désagrégation commence dans la région adjacente au scutellum et se propage depuis l'extrémité proximale vers l'extrémité distale du grain. Elle a lieu environ 18 heures après le début de la germination. L'amande de l'orge non germée est dure et compacte, alors que celle du malt est farineuse et friable.

Le degré de germination résulte donc d'un compromis entre un niveau suffisant d'hydrolyse des protéines et de biosynthèse des amylases et des pertes limitées de réserves par la respiration et la croissance de l'embryon. En effet, ces réserves sont des substrats pour les étapes ultérieures de la fabrication de la bière.

1.4.4. *Touraillage*

▶ OBJECTIFS DU TOURAILLAGE

Le touraillage a pour objectif principal de stopper la croissance du malt vert par déshydratation de l'orge pour permettre son stockage et son concassage : cette étape provoque la « mort » du grain. Par ailleurs, le touraillage conditionne le développement de la couleur et de l'arôme du malt, suivant l'intensité du traitement thermique appliqué.

▶ ÉVOLUTION DE LA GRAINE PENDANT LE TOURAILLAGE

Le touraillage se traduit par une augmentation progressive de la température du malt vert ou germé conduisant à des modifications dont l'amplitude dépend des paliers thermiques mis en œuvre.

L'activité biologique du grain doit être arrêtée quand la production d'enzymes et quand la modification de l'albumen ont atteint leurs niveaux optimaux. De plus, la teneur en eau du grain doit être réduite pour permettre le stockage du malt en évitant toute évolution biologique.

Au cours des premières étapes de séchage, la température du grain est très inférieure à celle de l'air ambiant, étant donné qu'à l'interface [grain/air], l'air est à saturation en eau (H_R = 100 %). À ce niveau, la température de l'air est d'environ 50 à 70 °C et celle du grain, proche de la température humide de l'air, de 25 à 30 °C. Dans ces conditions, l'humidité du grain est encore suffisante pour que la germination et les modifications de l'albumen se poursuivent. Si la température du grain dépasse 50 °C, cette activité est rapidement détruite. Les substances formées (sucres, dextrines, etc.) s'accumulent alors dans l'albumen.

Après dessiccation, la température du grain augmente progressivement et tend vers la température sèche de l'air car l'humidité relative de sa surface diminue. L'eau contenue dans l'orge est alors attirée à sa surface où elle s'évapore. Par conséquent, l'albumen s'assèche et son activité enzymatique diminue (diminution d'a_w), mais il faut éviter la dénaturation des enzymes dont le rôle est essentiel lors du brassage.

Au-delà de 60 °C, les enzymes sont progressivement inactivées. Elles sont détruites par des températures dépassant 110-120 °C ou par une durée prolongée du « coup de feu », qui correspond à la phase des réactions de brunissement non-enzymatiques (réactions de Maillard ; cf. chapitre 5 du premier volume) conduisant à la formation de substances colorées et aromatiques. Ces réactions sont le résultat de la condensation entre un groupement aminé et un groupement carbonyle (Maillard, 1912). Les paramètres qui influencent ces réactions sont la température, l'humidité, le pH, l'oxygène, les ions métalliques. La phase ultime des réactions de Maillard est la formation de mélanoïdines, de pigments bruns insolubles (Jackson et Wainwright, 1978) et de molécules volatiles aromatiques.

2. *Bases biologiques et physico-chimiques de la transformation*

L'orge, l'eau, le houblon et la levure constituent les matières premières de base de la bière mais ne sont nullement utilisables en tant que telles. Au cours des quatre étapes majeures du procédé — maltage, brassage, fermentation et conditionnement —, ces éléments sont progressivement transformés en bière.

Toutes les variétés d'orge ne conviennent pas à la fabrication de la bière, l'orge de brasserie devant répondre à un certain nombre de critères (pouvoir germinatif, pureté variétale, calibrage, teneur modérée en protéines). Le grain d'orge, riche en amidon (environ 65 % de son poids) doit être gros, uniforme, jaune pâle, bien protégé par son enveloppe fine et lisse.

2.1. Dégradation enzymatique des amidons et protéines

2.1.1. Dégradation enzymatique au cours du maltage

Les modifications biochimiques pendant le maltage sont complexes (Briggs, 2002). Au cours de la germination, l'embryon a besoin d'éléments nutritifs pour sa croissance, qu'il puise dans les réserves accumulées dans l'albumen amylacé. Ceci nécessite tout d'abord une solubilisation des réserves, comme nous l'avons indiqué précédemment. L'embryon sécrète lui-même des enzymes (protéases, amylases) qui diffusent du scutellum vers l'albumen. L'albumen amylacé devient donc le siège d'hydrolyses de l'amidon et des protéines. Les produits de dégradation peuvent alors diffuser à travers le grain et atteindre les tissus vivants où ils sont métabolisés. La synthèse de nouvelles molécules complexes, comme des protéines ou des polysaccharides dans l'embryon en croissance, occulte partiellement les dégradations qui se produisent ailleurs dans le grain et principalement dans l'albumen amylacé. De plus, les pertes de matière au cours du maltage rendent difficile l'analyse de ces phénomènes de production et de dégradation.

2.1.1.1. Modifications des glucides

Les sucres de l'orge sont l'amidon, les polysaccharides non-amylacés (hémicelluloses, β-glucanes, arabinoxylanes), les sucres solubles comme les mono- ou les disaccharides, et quelques oligosaccharides (Henry, 1988). Les sucres sont également présents sous la forme de glycoprotéines, glycolipides et acides nucléiques.

Le maltage conduit à une augmentation des sucres solubles, due à la dégradation de l'amidon et des polysaccharides des parois cellulaires de l'albumen (figure 94) et à des synthèses, notamment celle de saccharose. Des variations de modifications des sucres apparaissent selon les orges utilisées et les conditions de maltage (Chandra *et al.*, 1999).

La dégradation des polysaccharides pariétaux est un phénomène majeur de la désagrégation du grain d'orge au cours du maltage. La dégradation commence par la solubilisation des hémicelluloses grâce à la β-glucanase. Différentes β-glucanases sont synthétisées pendant la germination sous l'action de l'acide gibbérellique (figure 94). Celles-ci hydrolysent les β-glucanes et permettent la libération de polymères ou d'oligomères de glucose. L'hydrolyse des arabinoxylanes par des xylanases et l'arabinofuranosidase libère, du xylose, des polymères de xylose et de l'arabinose.

Suite à cette étape, les membranes cellulaires sont perméables aux enzymes amylolytiques, les α- et β-amylases, la dextrinase limite et l'α-glucosidase. L'action de ces diverses enzymes conduit à une hydrolyse partielle de l'amidon et à la libération de glucose, de maltose et de maltotriose. Le maltose et le maltotriose apparaissent en quantité significative (Allosio-Ouarnier *et al.*, 1999). L'hydrolyse se poursuit au cours du brassage.

Pendant le touraillage, les changements dépendent beaucoup des conditions employées. Si de basses températures sont appliquées, la quantité des sucres simples augmente ; si de hautes températures sont appliquées, elle diminue, probablement en raison des réactions de Maillard.

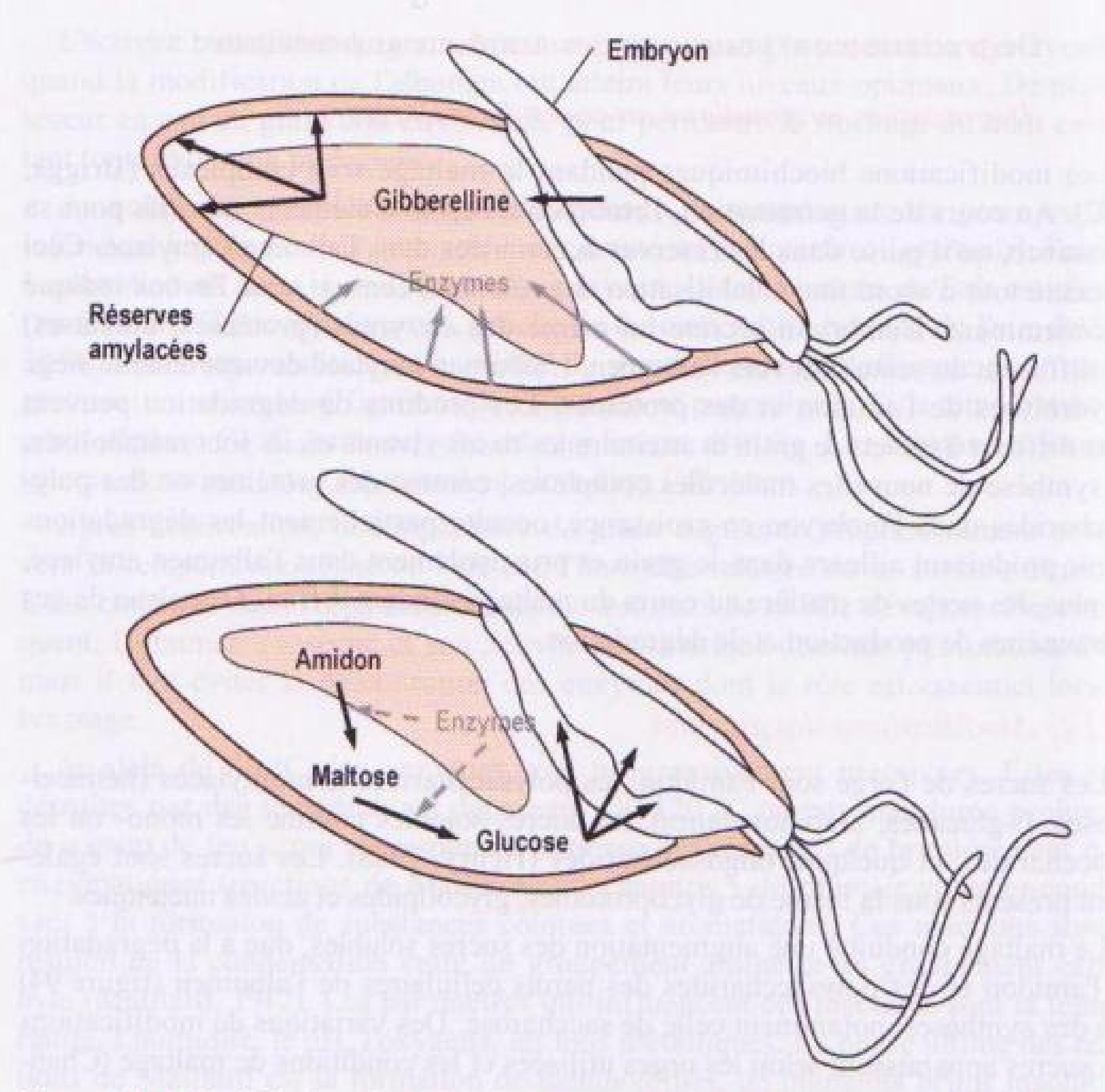


Figure 94 ■ Modification du grain d'orge sous l'action des hydrolases (d'après Carlsberg).

2.1.1.2. Modifications des protéines

La dégradation des protéines au cours du maltage est très importante. Si elle est insuffisante, elle est à l'origine de problèmes au cours du brassage et de défauts de la bière finale (Evans *et al.*, 1999). En effet, les granules d'amidon sont enchâssés dans une matrice protéique, qui, si elle n'est pas dégradée, gêne l'action des amylases au cours du brassage. De plus, la levure a besoin d'azote assimilable pour sa croissance au cours de la fermentation.

Le rapport des différentes fractions de protéines change au cours du maltage. Des matières azotées sont perdues par dissolution lors de la trempe. Pendant la germination, la quantité d'hordéines diminue significativement et le touraillage peut conduire à des dénaturations de protéines. L'évolution de la concentration en hordéine a été bien étudiée au cours du maltage. Les malts fortement désagrégés renferment la moitié des hordéines présentes dans l'orge non germée.

Pendant le maltage, il y a une dégradation des protéines de réserve de l'albumen amylacé provoquée par l'augmentation de la quantité d'enzymes protéolytiques, une

augmentation des fractions hydrosolubles d'azote non protéique et une biosynthèse de matières azotées dans la couche à aleurone et dans l'embryon en croissance.

Les enzymes protéolytiques agissent dès le début de la germination et attaquent plus spécialement la fraction hordéine dans l'albumen. Elles sont synthétisées au niveau du scutellum de l'embryon. Les endoprotéinases agissent majoritairement et coupent les liaisons peptidiques de l'intérieur des protéines permettant la libération de peptides et de polypeptides. Il existe aussi des exoprotéinases, qui hydrolysent les protéines à partir de leurs extrémités et libèrent un acide aminé à chaque cycle. Selon l'extrémité attaquée, ces dernières sont nommées carboxypeptidases pour celles agissant à partir de la terminaison carbonyle et aminopeptidases pour celles agissant à partir de la terminaison amine. Les carboxypeptidases sont abondantes tout au long du maltage.

2.1.2. Dégradation enzymatique au cours du brassage

Le brassage est l'étape de préparation du moût destinée à la fermentation. L'objectif du brassage est :
- de dissoudre les composés qui se sont préformés pendant le maltage ;
- d'utiliser les enzymes synthétisées pendant le maltage pour poursuivre la transformation de l'amidon en sucres fermentescibles ;
- d'activer les protéases résiduelles du malt touraillé pour continuer la transformation des protéines en éléments plus simples (acides aminés, peptides, polypeptides) ;
- d'amériser le moût par l'utilisation de houblon.

Les principales transformations au cours du brassage ont lieu au niveau des composés glucidiques qui représentent environ 90 % de l'extrait sec du moût ; l'amidon du malt subit les dégradations suivantes : hydratation des granules d'amidon, gélatinisation avec augmentation de la viscosité (empesage), dégradation enzymatique (liquéfaction), puis saccharification.

2.1.2.1. Macération

La macération permet d'effectuer les transformations biochimiques conduisant aux éléments nécessaires au bon déroulement de la fermentation du moût en utilisant essentiellement les enzymes synthétisées ou activées pendant le maltage. Le malt concassé et l'eau sont mélangés dans une cuve pour former la maïsche : c'est l'empâtage. Le mélange eau-farine est repris dans une cuve matière où plusieurs paliers de température sont réalisés : ils permettent au brasseur de diriger la dégradation des parois cellulaires (par les β-glucanases), puis la protéolyse et enfin l'amylolyse en jouant sur les conditions optimales d'activité des enzymes impliquées. La température et le pH sont donc des facteurs majeurs au cours de la macération puisque ces deux paramètres conditionnent l'activité optimale des enzymes amylolytiques et protéolytiques. Si la maïsche est diluée, les actions amylolytiques sont favorisées par rapport aux actions protéolytiques car les amylases sont moins thermosensibles. Au contraire, les actions protéolytiques sont favorisées dans une

maïsche épaisse, car d'une manière générale, les peptidases sont plus thermorésistantes en milieu concentré.

La transformation de l'amidon au cours du brassage commence par l'éclatement des granules d'amidon sous l'effet de la chaleur et la libération des chaînes d'amylose et d'amylopectine : c'est l'empesage. L'amidon empesé se présente sous la forme d'une masse extrêmement visqueuse et compacte. L'action de l'α-amylase, une endo-enzyme coupant les liaisons α(1-4), conduit à la scission des molécules d'amylose et d'amylopectine. En conséquence, des dextrines sont libérées et on observe une diminution de la viscosité de la solution d'amidon : c'est la liquéfaction. Lorsque tout l'amidon est empesé puis liquéfié, les α- et β-amylases agissent sur les chaînes de dextrines pour former des sucres fermentescibles (80 %) et non fermentescibles (20 %) : c'est la saccharification. Contrairement à l'α-amylase, la β-amylase est une exo-enzyme qui coupe les liaisons α(1-4) à partir d'une extrémité réductrice pour produire du maltose et du glucose. L'activité optimale de la β-amylase s'étend de 62 à 65 °C à pH 5,4-5,6. Sa température de dénaturation est de 70 °C. L'α-amylase a une température optimale d'activité de 70-75 °C à pH 5,6-5,8, et est dénaturée à 80 °C. La dextrinase limite, qui attaque uniquement les liaisons α(1-6) des chaînes ramifiées d'amylopectine et la maltase, qui transforme le maltose en glucose, agissent peu en brasserie et n'influencent donc pas la quantité de sucres fermentescibles. Tout l'amidon n'est pas transformé au cours du brassage, et les matières amylacées représentent un tiers des matières sèches des drêches.

Les matières azotées sont d'abord transformées au cours du maltage, puis au cours du brassage sous l'action d'enzymes telles que les endopeptidases ou les carboxypeptidases. Les protéases ont une température optimale de 45-50 °C, ce qui explique leur rôle essentiel lors de la macération et conduit à des chaînes relativement longues de polypeptides. Un compromis doit être trouvé entre la production d'acides aminés nécessaires à la levure et la dégradation des chaînes polypeptidiques favorables à la stabilité colloïdale, mais nuisibles à la tenue de mousse.

Le pH au brassage a un rôle important puisque c'est lui qui conditionne l'action des enzymes, la précipitation des matières protéiques et le rendement du houblonnage. Le pH en chaudière de macération est en général voisin de 5,6. Le malt possède un pouvoir tampon et l'eau de brassage est souvent corrigée par acidification de façon à obtenir un pH voisin du pH optimum des α- et β-amylases. Les acides ajoutés sont les acides sulfurique, chlorhydrique, lactique ou phosphorique.

La macération aboutit à un liquide riche en sucres fermentescibles, en acides aminés et en peptides assimilables par la levure : c'est le moût.

2.1.2.2. Ébullition du moût

Le moût, une fois filtré, est porté à ébullition dans la chaudière à houblonner où est ajouté le houblon (figure 95). Cette opération a pour objectifs de stériliser, stabiliser et de concentrer le moût en développant sa couleur et sa flaveur.

La stabilisation est tout d'abord biologique car les bactéries encore présentes dans le moût sont détruites. Lors de l'ébullition, les enzymes, en particulier l'α-amylase, sont inactivées, ce qui évite une évolution de la composition en sucres

du moût au cours de la fermentation. En effet, ceci pourrait conduire à des problèmes de stabilité biologique et de tenue de mousse de la bière finie. Enfin, la stabilité colloïdale de la bière est améliorée, car des matières azotées et des complexes protéines-polyphénols sont éliminés.

Le développement de la flaveur et de la couleur est influencé par la réduction de substances volatiles indésirables telles que le diméthylsulfure et son précurseur la S-méthyl-méthionine et par les réactions de Maillard qui conduisent à une caramélisation de sucres réducteurs (maltose, fructose, glucose) et à un complément de formation de mélanoïdines ; ces deux réactions accroissent la couleur et l'arôme du moût.

Le houblonnage a lieu au cours de l'ébullition et contribue à la flaveur de la bière en lui donnant son goût et son arôme caractéristique. Il permet une solubilisation et une transformation des principes actifs du houblon dont la lupuline qui se décompose en acides α (humulones) et β (lupulones) peu amers et solubles. Par chauffage, ces derniers se dissolvent et les acides α se transforment en leurs isomères beaucoup plus solubles et amers, les isohumulones ou substances amères de la bière (figure 96). Les isohumulones ont une influence marquée de par leurs propriétés tensioactives sur les propriétés physiques du moût et de la bière.

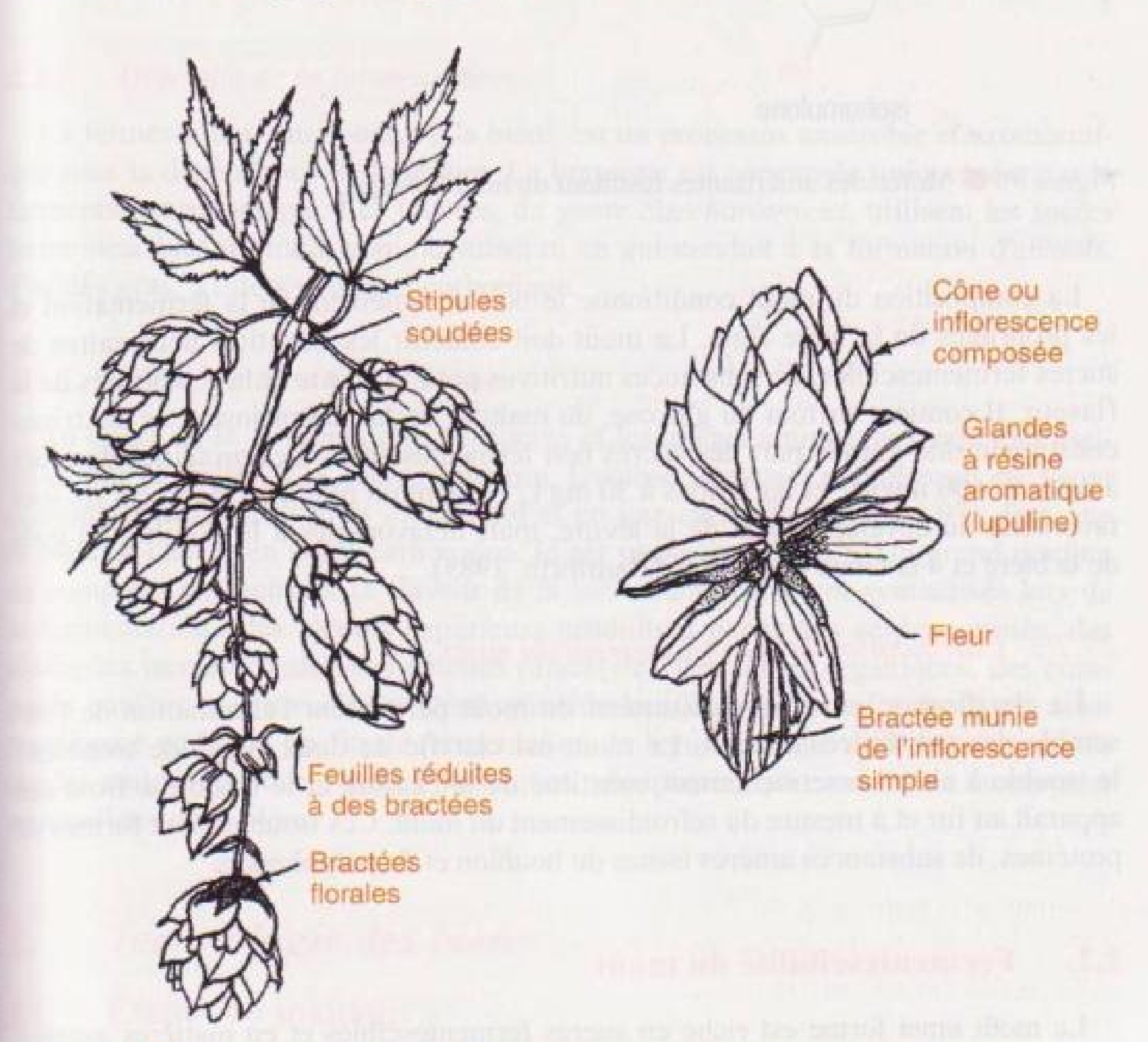


Figure 95 ■ Vue générale de cônes de houblon (J. Barloy, Agrocampus Rennes).

humulone lupulone

isohumulone

Figure 96 ■ Molécules amérisantes résultant du houblonnage.

La composition du moût conditionne le bon déroulement de la fermentation et les propriétés de la bière finie. Le moût doit contenir les quantités nécessaires de sucres fermentescibles, de substances nutritives pour la levure et les composés de la flaveur. Il contient surtout du glucose, du maltose et du maltotriose. Les dextrines constituent une grande part des sucres non fermentescibles. Les protéines du moût à environ 400 $mg \cdot L^{-1}$ et les lipides à 30 $mg \cdot L^{-1}$ jouent un rôle important, car ils sont favorables au développement de la levure, mais défavorables à la stabilité du goût de la bière et à la tenue de mousse (Bamforth, 1985).

2.1.2.3. Clarification et refroidissement du moût

La clarification et le refroidissement du moût permettent l'élimination de l'ensemble des substances solides. Le moût est clarifié de deux types de troubles : le trouble à chaud essentiellement constitué de la cassure et le trouble à froid qui apparaît au fur et à mesure du refroidissement du moût. Ces troubles sont formés de protéines, de substances amères issues du houblon et de polyphénols.

2.2. Fermentescibilité du moût

Le moût ainsi formé est riche en sucres fermentescibles et en matières azotées qui peuvent être utilisés par la levure lors de la fermentation (figure 97).

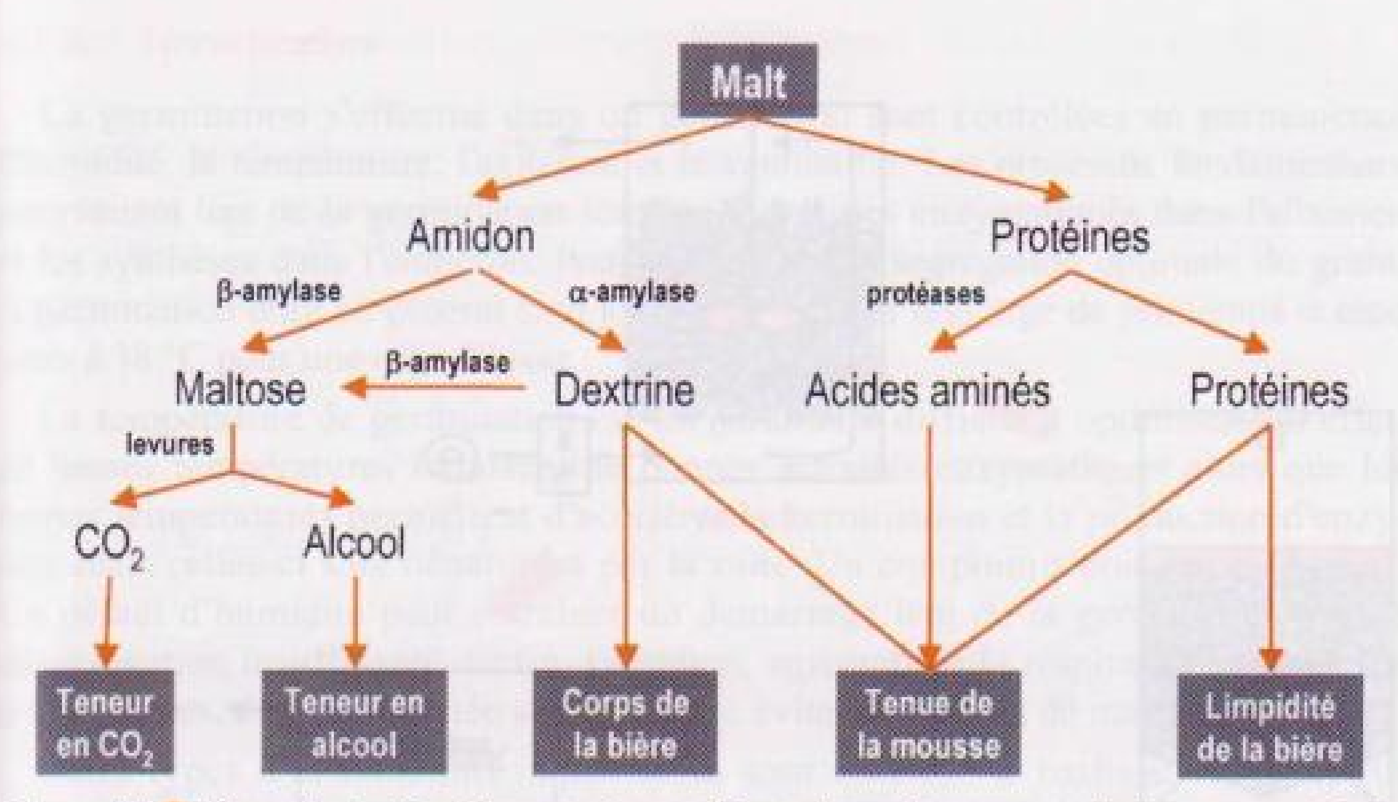


Figure 97 ■ Devenir de l'amidon et des protéines du malt au cours du brassage et de la fermentation.

2.2.1. *Objectifs de la fermentation*

La fermentation, qui conduit à la bière, est un processus anaérobie et exothermique sous la dépendance de la levure. La brasserie est concernée uniquement par la fermentation alcoolique. Les levures, du genre *Saccharomyces*, utilisent les sucres fermentescibles du moût comme substrat, ce qui conduit à la formation d'alcools, d'acides gras, d'esters et de gaz carbonique.

2.2.2. *Modifications biochimiques*

Au cours de la fermentation, les sucres et les acides aminés du moût sont assimilés par la levure. Les sucres (glucose, fructose, maltose, maltotriose, etc.) sont principalement transformés en éthanol et en gaz carbonique (figure 97). Dès que la bière se charge en acide carbonique, le pH passe de 5,5 à 4,5. Un grand nombre de composés influençant la flaveur de la bière sont également synthétisés lors de la fermentation : des alcools supérieurs produits à partir des acides aminés, des aldéhydes (acétaldéhyde), des cétones (diacétyle), des acides organiques, des composés soufrés (sulfure d'hydrogène, diméthylsulfure, sulfite). Le moût est ainsi transformé en bière. En fin de fermentation, la levure excrète différents composés (acides aminés, peptides, acides nucléiques, phosphates) qui contribuent au corps et au moelleux de la bière.

3. *Technologie des bières*

3.1. Étapes du maltage

La figure 98 présente les différentes opérations effectuées en malterie.

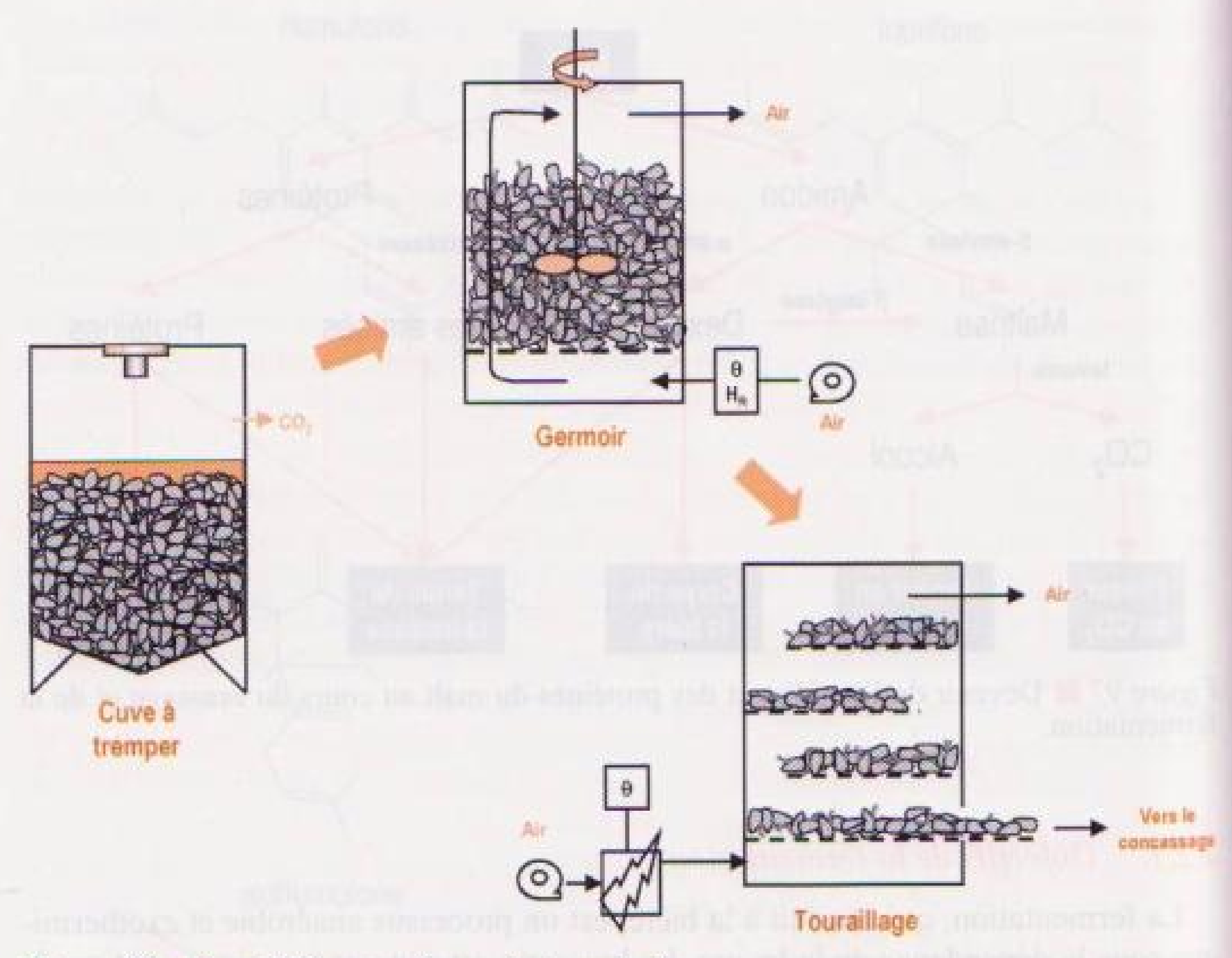


Figure 98 ■ Les différentes étapes de la malterie.

3.1.1. Trempe

Dans un premier temps, de l'eau est introduite par la base d'une cuve de trempe et l'orge y est versée, préalablement nettoyée, triée et calibrée. Pendant la première heure, de l'air comprimé est injecté en laissant couler le trop-plein. L'orge est alors immergée pour les six à huit heures suivantes (première période sous-eau). L'eau est alors éliminée par la base de la cuve et l'orge est laissée à l'air (première période sous-air). Dans la suite du procédé, une succession de périodes sous-eau et de périodes sous-air permet au grain d'acquérir le taux d'humidité requis pour les étapes ultérieures. Une trempe comporte en général trois périodes sous-eau. Le but d'une telle technique est de permettre l'imbibition requise par le grain pour les étapes suivantes tout en lui apportant également l'oxygène nécessaire. Pour éviter l'asphyxie du grain pendant les périodes sous-air et l'inhibition pendant la germination, le dioxyde de carbone dégagé par la respiration du germe est éliminé ; le rapport dioxyde de carbone/oxygène ne doit pas dépasser 1. Les techniques modernes de trempe durent environ 40 heures.

La trempe s'effectue dans des cuves cylindro-coniques ou des cuves à fond plat : l'épaisseur du lit de grains est uniforme, l'aération très bonne et l'extraction du dioxyde de carbone efficace.

3.1.2. *Germination*

La germination s'effectue dans un germoir où sont contrôlées en permanence l'humidité, la température, l'agitation et la ventilation. Les processus fondamentaux intervenant lors de la germination sont les hydrolyses enzymatiques dans l'albumen et les synthèses dans l'embryon. Pour obtenir une désagrégation optimale du grain, la germination dure en général cinq jours à 16 °C pour une orge de printemps et cinq jours à 18 °C pour une orge d'hiver.

La température de germination est un paramètre difficile à optimiser. En effet, de basses températures induisent de bonnes activités enzymatiques alors que les hautes températures permettent d'accélérer la germination et la production d'enzymes mais celles-ci sont dénaturées par la suite. Un compromis doit être recherché. Un défaut d'humidité peut entraîner un démarrage lent de la germination et une désagrégation insuffisante. Enfin, l'aération, agissant sur la respiration et donc sur les synthèses, doit être limitée si on souhaite éviter des pertes de matières.

Deux types d'installations industrielles sont utilisés : le maltage sur aire, qui n'est quasiment plus pratiqué et le maltage pneumatique. Les différentes étapes ont lieu dans des cases de germination. La couche de grains est aérée de façon régulière pour limiter sa température suite aux réactions exothermiques liées à la désagrégation.

Le produit obtenu à la fin de cette étape est appelé malt vert.

3.1.3. *Touraillage*

Le touraillage s'effectue en étalant en couche plus ou moins épaisse le malt vert sur des plateaux métalliques perforés (touraille à simple ou double plateau), et en envoyant au travers un courant d'air chaud permettant d'imposer plusieurs paliers de température ; il dure de 24 à 48 heures. Il conditionne l'arrêt des transformations biochimiques du malt vert, qui peut alors être stocké jusqu'au concassage.

Le touraillage conditionne également le développement de la couleur et de l'arôme du malt. La qualité de la bière finie dépend ainsi du contrôle et de la maîtrise du « coup de feu », dernière étape du touraillage qui s'apparente à une torréfaction du malt. Cette étape permet en effet, selon son intensité et sa durée, d'obtenir un malt plus ou moins aromatisé dont la couleur varie du blond pâle au brun foncé, qui sera mis en œuvre dans la fabrication des bières blondes, rousses ou brunes. Le touraillage du malt vert se déroule en cinq étapes :

1. Un premier séchage jusqu'à une teneur en eau de 23 %.
2. Un séchage intermédiaire jusqu'à une teneur en eau de 12 % (50-70 °C, 12-22 heures).
3. Une élimination de l'eau liée, jusqu'à une teneur en eau de 6 % (65-75 °C).
4. Le « coup de feu », où la teneur en eau est amenée à 2-5 % (85-110 °C, 4-5 heures). La température du « coup de feu » des malts destinés aux bières blondes n'excède pas 85 °C, alors que les malts destinés aux bières brunes peuvent subir des températures de 110 °C.

5. Le refroidissement par ventilation d'air froid pour ramener la température à 30-35 °C.

La survie des enzymes thermosensibles implique une température initiale de touraillage peu élevée (50 °C pendant une durée n'excédant pas 24 heures). La thermorésistance des enzymes augmentant avec la réduction de la teneur en eau, la température peut ensuite être augmentée pour favoriser le développement des arômes et de la couleur désirée.

3.1.4. Dégermage et stockage du malt

Il permet d'éliminer les radicelles qui donnent un goût très amer à la bière. Les radicelles contiennent des substances non protéiques, des composés protéiques, des matières grasses ainsi que des vitamines. Les grains ainsi obtenus forment le malt. Il faut compter 133 kg d'orge pour obtenir 100 kg de malt. Le malt fraîchement touraillé contient entre 1,5 et 4,5 % d'humidité. Le stockage doit avoir lieu à des températures inférieures à 25 °C et le délai minimum entre le touraillage et le brassage doit être d'un mois.

3.2. Étapes de la fabrication de la bière

La durée de fabrication d'une bière est généralement d'environ trois semaines. Elle est suivie d'une maturation conférant à la bière son caractère et son bouquet et pouvant durer plusieurs mois dans certains cas. La figure 99 présente les différentes opérations effectuées en brasserie.

3.2.1. Concassage

Avant brassage, le malt et éventuellement des grains crus (maïs, riz, blé) sont mis en silo puis transformés en farine, généralement à l'aide de moulins à cylindre. Lors de cette étape, il faut veiller à ne pas détruire les enveloppes de protection des grains qui seront très utiles lors de la filtration du moût, car elles constituent le milieu (« gâteau ») de filtration. Le niveau de filtration est conditionné par la finesse de la mouture obtenue, en fonction du type de grains crus éventuellement ajoutés lors du brassage. Lorsqu'un fort pourcentage de grains crus est utilisé, la mouture est plus grossière et la filtration plus rapide.

Deux techniques sont utilisées : la mouture sèche et la mouture humide. L'humidification du grain avant son passage dans le moulin permet de protéger les enveloppes au cours du concassage. Des moulins à marteaux sont également utilisés si la technologie de filtration permet l'utilisation d'une farine plus fine.

3.2.2. Macération

Lorsque des grains crus (maïs, riz) sont mis en œuvre, un empesage est réalisé en présence d'une petite quantité de malt dans la cuve à trempe. Les enzymes du malt favorisent la liquéfaction de l'amidon à une température de l'ordre de 75 °C et la gélatinisation est achevée par un chauffage à ébullition.

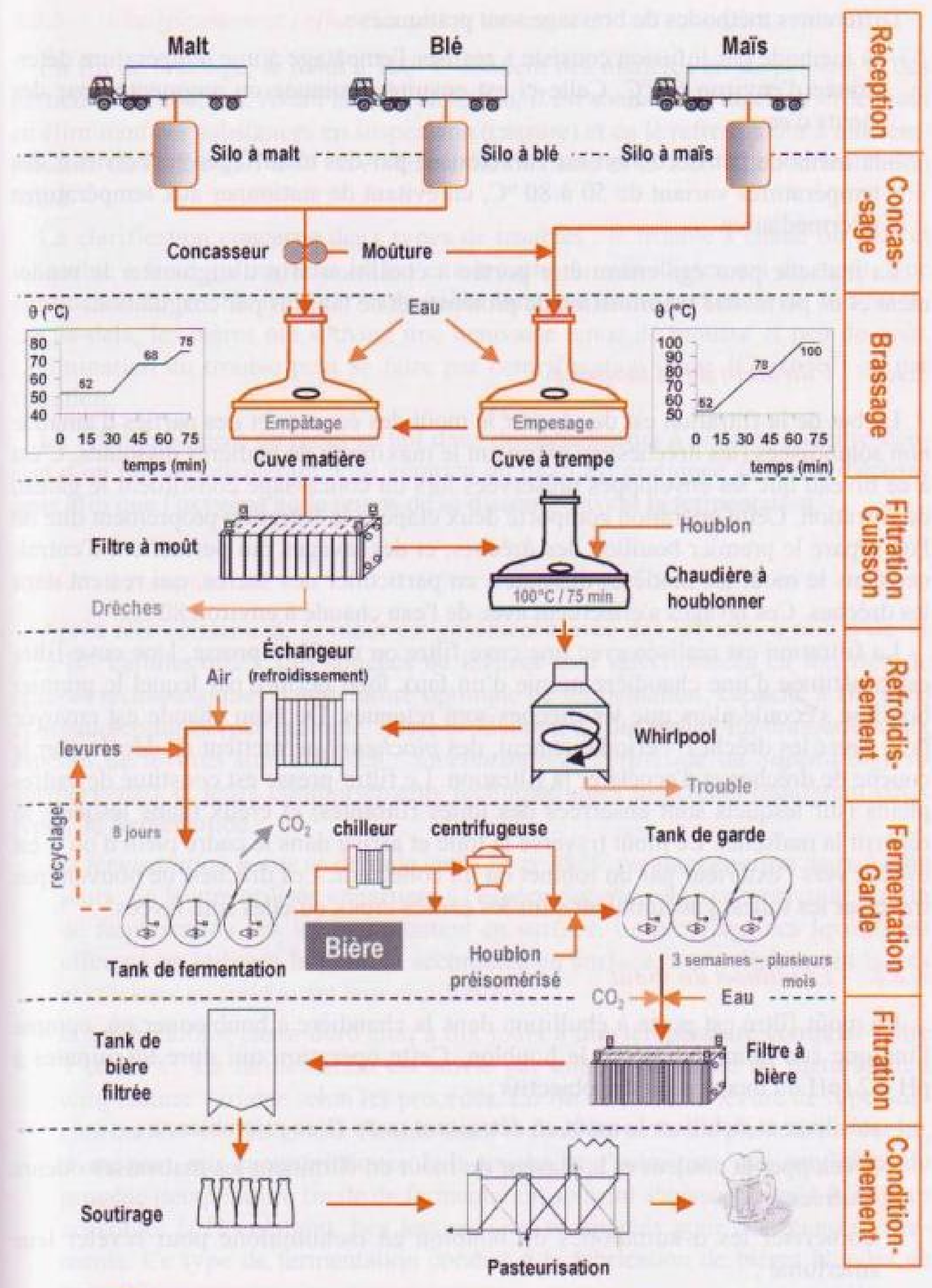


Figure 99 ■ Les différentes étapes de la fabrication de la bière.

Le malt concassé, l'eau et le contenu de la cuve à trempe sont mélangés dans la cuve matière : c'est l'empâtage. Ce mélange forme ce que l'on appelle la maïsche. Plusieurs paliers de température sont réalisés pour permettre l'action successive des protéases, de la β- et de l'α-amylase.

Différentes méthodes de brassage sont pratiquées :

– la méthode par infusion consiste à réaliser l'empâtage à une température déterminée d'environ 65 °C. Celle-ci est ensuite diminuée ou augmentée par des ajouts d'eau ;
– la méthode par décoction est caractérisée par des chauffages successifs à des températures variant de 50 à 80 °C, en évitant de stationner aux températures intermédiaires.

La maïsche peut également être portée à ébullition afin d'augmenter le rendement et de permettre l'élimination de protéines et de tannins par coagulation.

3.2.3. *Filtration de la maïsche*

Le but de la filtration est de séparer le moût des écorces et des parties d'amande non solubilisées (les drêches) en extrayant le maximum de matières dissoutes. C'est à ce niveau que les enveloppes préservées lors du concassage constituent le gâteau de filtration. Cette opération comporte deux étapes : la filtration proprement dite où l'on sépare le premier bouillon des drêches, et des lavages qui permettent d'entraîner dans le moût les matières dissoutes, en particulier des sucres, qui restent dans les drêches. Ces lavages s'effectuent avec de l'eau chaude à environ 80 °C.

La filtration est réalisée avec une cuve filtre ou un filtre-presse. Une cuve filtre est constituée d'une chaudière munie d'un faux fond perforé par lequel le premier bouillon s'écoule alors que les drêches sont retenues. De l'eau chaude est envoyée pour laver les drêches. Périodiquement, des *piocheurs* permettent de décolmater la couche de drêches et d'accélérer la filtration. Le filtre-presse est constitué de cadres pleins (sur lesquels sont enserrées des toiles filtrantes) et creux (dans lesquels se répartit la maïsche). Le moût traverse la toile et arrive dans le cadre plein d'où il est évacué vers l'extérieur par un robinet ou un collecteur. Les drêches, ne pouvant pas traverser les toiles, s'accumulent dans les cadres creux où elles sont lavées.

3.2.4. *Ébullition du moût*

Le moût filtré est porté à ébullition dans la chaudière à houblonner où, comme l'indique son nom, est ajouté le houblon. Cette opération qui dure 90 minutes à pH 5,2 (pH du moût), a quatre objectifs :

– stériliser et stabiliser le moût en détruisant toute flore microbienne ;
– développer la couleur et la flaveur du moût en éliminant les mauvaises odeurs soufrées ;
– isomériser les α-humulones du houblon en isohumulone pour révéler leur amertume ;
– concentrer le moût ; la cuisson entraîne une concentration par évaporation, ce qui permet d'amener le moût à la densité désirée.

Le houblon doit être adapté au type de bière en tenant compte de la qualité organoleptique du produit fini. Le houblon est utilisé sous différentes formes : cônes de fleurs (femelle uniquement, dont le pollen est aromatique), pellets (cônes compressés) ou extraits.

3.2.5. *Clarification et refroidissement du moût*

En fin de brassage, le moût à 100 °C contient des matières en suspension et des particules de houblon. Avant la mise en levain, il est souhaitable de clarifier le moût en éliminant ces substances en suspension (cassure) et en le refroidissant à une température de l'ordre de 7 à 10 °C en fermentation basse et 15 à 20 °C en fermentation haute.

La clarification concerne deux types de troubles : le trouble à chaud ou *trub* et le trouble à froid qui apparaît au fur et à mesure du refroidissement du moût. Une élimination du trouble froid est souhaitable dans une limite maximale de 70 à 80 %, car au-delà, les bières ont souvent une mauvaise tenue de mousse et peu de goût. L'élimination du trouble peut se faire par centrifugation (cuve *Whirlpool*) ou par filtration.

Le refroidissement du moût se fait dans des échangeurs à plaques à contre-courant d'un liquide réfrigérant. Une aération du moût est pratiquée en sortie d'échangeur afin que l'oxygène ait le temps de se dissoudre avant la fermentation.

3.2.6. *Fermentation*

Après refroidissement, le moût est ensemencé avec des levures, à raison de 15 à $25 \cdot 10^6$ cellules$\cdot$mL^{-1}. Les souches de levures sont sélectionnées en fonction de critères technologiques (température optimale de fermentation, capacité à floculer) et organoleptiques (par exemple, faible production de diacétyle). En brasserie, deux espèces de levures sont utilisées : *Saccharomyces cerevisiae* ou *Saccharomyces carlbergensis* et leurs comportements technologiques différents requièrent deux types de fermentation :

- la *fermentation haute* se déroule entre 15 et 25 °C pendant environ deux à cinq jours. La levure utilisée appartient à l'espèce *Saccharomyces cerevisiae*. En fin de fermentation, les levures montent en surface. Le recyclage des levures est effectué en utilisant la mousse accumulée en surface. Les cellules sont lavées et stockées au froid avant leur réutilisation ;
- la *fermentation basse* dure cinq à dix jours à une température comprise entre 7 et 12 °C. La fermentation est suivie par une garde froide ou maturation à température variable selon les procédés. En fin de cycle, la levure de type *Saccharomyces carlbergensis* flocule dans le fond du tank. Ce phénomène est lié, d'une part, aux caractéristiques de la souche, et d'autre part, aux conditions du procédé (température finale de fermentation souvent abaissée jusqu'à 4 °C pour accentuer la floculation). Les levures sont récupérées pour des réensemencements. Ce type de fermentation conduit à la fabrication de bières blondes de type *Pils*.

3.2.7. *Garde*

La bière produite lors de la fermentation ou bière verte n'a pas encore les propriétés organoleptiques requises pour être consommée. Elle subit donc une garde ou maturation. Cette étape au cours de laquelle se poursuit la fermentation favorise

la dissolution du gaz carbonique, la décantation de matières en suspension (levures, précipités formés par des protéines et des substances amères du houblon) et l'affinage de la flaveur de la bière.

La garde ou maturation peut s'opérer à 5-8 °C, en particulier pour les levures non floculantes. La bière est donc refroidie de la température de fermentation à celle de maturation en 24 à 36 heures. Cette température est maintenue cinq à huit jours jusqu'à la réduction complète du diacétyle, qui est assimilé par les levures. Les autres composés, comme le sulfure d'hydrogène et l'acétaldéhyde, sont également éliminés. À la fin de la période de maturation, la bière doit être refroidie vers 3-4 °C, puis amenée rapidement à – 1 °C pendant au moins 48 heures pour précipiter les complexes protéines-polyphénols. Il faut ensuite éviter le réchauffement de la bière avant la filtration afin de ne pas redissoudre le trouble au froid formé.

3.2.8. Filtration

La filtration est l'étape qui termine la fabrication de la bière. Le but de la filtration est triple :

- clarifier la bière pour la rendre translucide ;
- diminuer la charge en micro-organismes en retenant la plus grande partie des bactéries éventuellement présentes et des levures subsistant en fin de garde ;
- stabiliser la bière par rétention des complexes protéines-polyphénols et des colloïdes qui formeraient rapidement un trouble, ainsi que les polysaccharides et les protéines peu solubles.

Au cours de la filtration, les levures et bactéries sont retenues sur la base de mécanismes d'exclusion stérique, et les substances amères dissoutes par affinité chimique (adsorption, précipitation) ou exclusion ionique (répulsion).

Le refroidissement de la bière à 0-1 °C avant et pendant la filtration est la clé d'une bonne stabilité colloïdale. À ce niveau, une centrifugeuse est utilisée lorsque la charge en levure de la bière est élevée ou irrégulière. La teneur en gaz carbonique est ajustée avant l'envoi de la bière en tank de bière filtrée.

La filtration de la bière peut être réalisée (Fillaudeau et Blanpain Avet, 1999) :

- en filtration frontale, à l'aide de filtres à plaques (filtre presse) ou de filtres à Kieselguhr, roche sédimentaire constituée d'algues brunes cellulaires fossilisées ajoutée à la bière en tant qu'adjuvant de filtration, et constituant le gâteau de filtration. L'usage du Kieselguhr est aujourd'hui très largement remis en question pour des raisons environnementales (effluents fortement polluants) et de santé publique (produit pulvérulent pouvant entraîner des lésions respiratoires chez les opérateurs) ;
- en microfiltration tangentielle (cf. chapitre 10, § 5 du premier volume), qui constitue la principale alternative à la filtration sur Kieselguhr et pourrait permettre de s'affranchir de l'étape de pasteurisation et des altérations organoleptiques qu'elle engendre (principe de la filtration stérilisante). De plus, l'automatisation et le caractère continu de ce procédé permettent d'envisager des améliorations significatives de productivité. Encore ponctuelle aujourd'hui,

l'implantation de la microfiltration tangentielle en brasserie au cours des prochaines années dépendra essentiellement de la remise en cause du Kieselguhr et des progrès des adjuvants régénérables.

3.2.9. Stabilisation

La détérioration de la translucidité de la bière au cours du stockage est principalement due à une instabilité colloïdale. En effet, un trouble peut se former suite à une réaction entre des substances protéiques et des polyphénols (tannins ou proanthocyanidines). Ces molécules proviennent du malt et du houblon et présentent une affinité vis-à-vis de certaines protéines du malt, en particulier les hordéines, qui sont des protéines de stockage caractérisées par un fort contenu en résidus proline. L'interaction entre tannins et hordéines est basée sur la formation de liaisons hydrogène, facilitées à basse température. Bien que les proanthocyanidines soient physiquement séparées de ces protéines dans le malt, elles sont capables de former des complexes au cours du brassage qui précipitent. Ce phénomène se poursuit après l'ébullition du moût et lors de la fermentation, la température étant plus faible.

Afin de maîtriser la stabilité colloïdale et donc de réduire la quantité des composés responsables du trouble, les brasseurs éliminent soit les polyphénols, soit les protéines. Ils peuvent notamment utiliser l'adsorption par le PVPP (polyvinylpolypyrrolidone), polymère synthétique insoluble de haut poids moléculaire qui forme des complexes très stables avec les substances polyphénoliques de la bière, ce qui permet de réduire les complexes protéines-polyphénols. Les traitements à la bentonite (silicate d'aluminium), au gel de silice ou à base d'enzymes protéolytiques permettent de réduire la teneur en protéines et empêchent ainsi la formation de complexes avec les tannins. La stabilité colloïdale d'une bière est un objectif délicat à atteindre. L'emploi de matières premières sélectionnées, le respect des principes de brassage, l'application d'une garde froide, d'une filtration et d'un soutirage à l'abri de l'air permettent de réduire le recours à des auxiliaires technologiques. Outre la stabilité colloïdale, le brasseur recherche également la stabilité organoleptique et microbienne et une bonne tenue de la mousse (Lusk *et al.*, 1995 ; Ohata et Kamada, 1987 ; Segel *et al.*, 1967).

3.2.10. Conditionnement

Après filtration, la bière est soutirée soit en fûts (tirage à la pression), soit en bouteilles. Afin d'assurer à la bière une bonne conservation, la pasteurisation peut être effectuée en vrac (flash pasteurisation) ou après conditionnement (pasteurisation basse, généralement réalisée en tunnel).

6

Des fruits aux jus de fruits et produits fermentés

Les fruits, charnus, déhiscents ou secs, représentent une part importante de l'alimentation humaine. Les quatre principales productions de fruits charnus sont la banane-fruit, le raisin, la pomme et l'orange ; elles représentent, à elles seules, 55 % du total. Les fruits sont destinés soit à la consommation en frais soit à la transformation (purées et tranches, jus et concentrés, vins et alcools). La part pour la transformation, importante pour le raisin et les agrumes est moindre pour la pomme et reste marginale pour la banane.

Selon le produit fini souhaité (jus limpide, jus trouble, nectar, concentré ou boissons fermentées, etc.) et le fruit mis en œuvre, la transformation est sujette à de nombreuses variations. Les adaptations des techniques prennent en compte, empiriquement ou de façon plus rationnelle, les spécificités structurales et biochimiques du végétal. Le défi du technologue est de parvenir à assurer la stabilité colloïdale et la stabilité microbienne tout en conservant les qualités nutritionnelles et organoleptiques de la boisson qui sont issues du fruit et générées lors de la fermentation.

1. Développement des fruits

1.1. Phases du développement

Sur le plan anatomique, le vrai fruit est un ovaire à maturité donc provenant de tout ou partie des tissus du carpelle. Cependant, les fruits de nombreuses espèces se forment au dépend d'autres tissus péricarpellaires. Par exemple, dans l'ananas, la mûre, la pomme ou la poire, la plus grande part du fruit est formée respectivement des bractées, du calice ou du tube floral (base fusionnée des organes floraux). La fraise provient du réceptacle floral qui porte les akènes, les vrais fruits. Même les fruits exclusivement issus des tissus carpellaires peuvent présenter des variations importantes de développement allant de la simple expansion du carpelle pour donner la drupe des fruits à noyau, à la différentiation des tissus conduisant à l'albedo, au flavedo et à la chair multicarpellée des agrumes ou de la banane.

À partir de la nouaison, le développement du fruit peut être divisé en trois stades (figure 100).

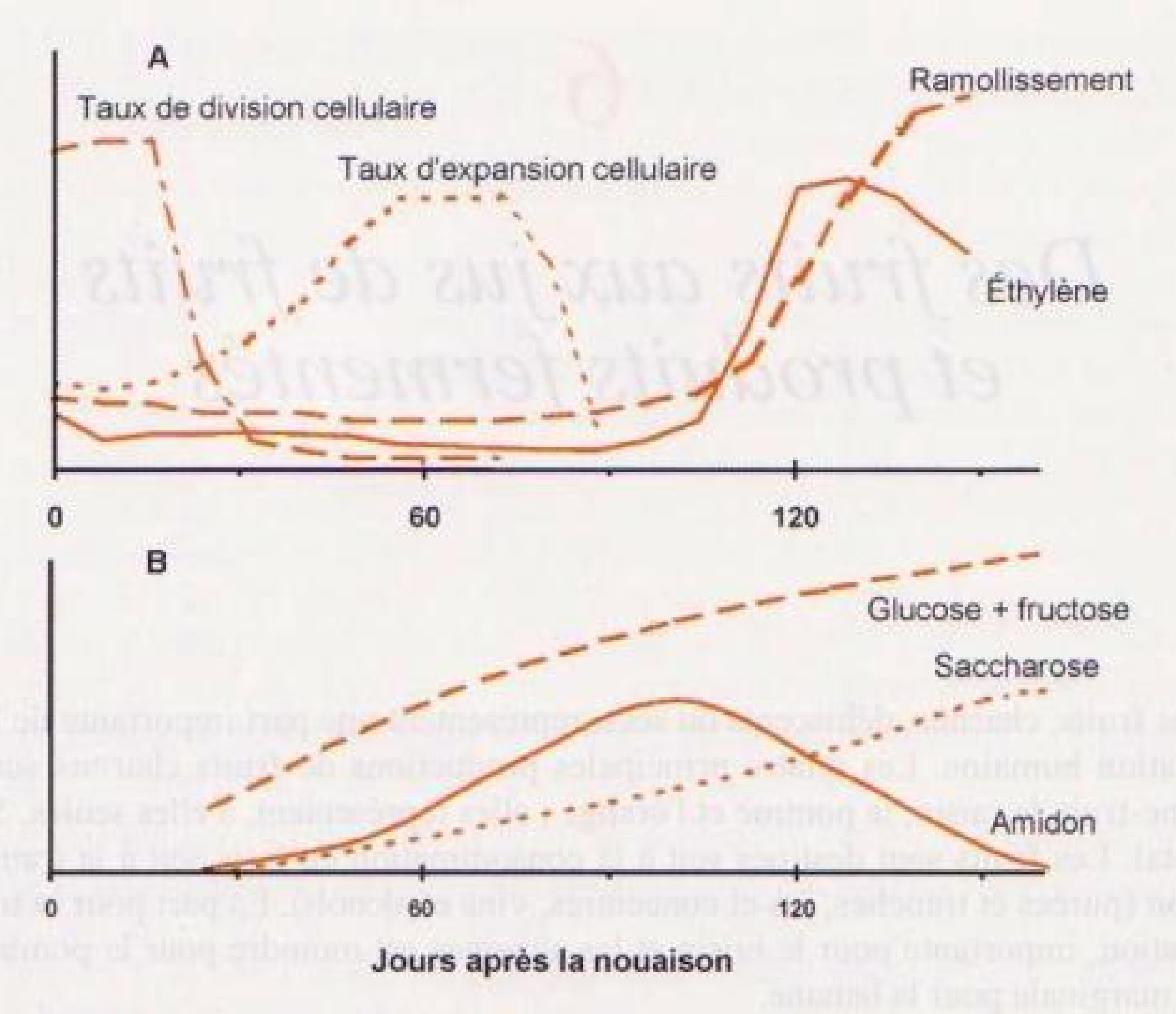


Figure 100 ■ Stades de développement des fruits.
A) Changements majeurs durant le développement d'une pomme ; B) Évolution des oses.

Le stade I est une période d'intense division cellulaire avec la différentiation des tissus et accumulation de métabolites tels les polyphénols ou les acides organiques. Selon l'espèce et le cultivar, il dure entre deux et huit semaines. Le stade II (trois à dix semaines) est une phase d'expansion cellulaire responsable du grossissement du fruit au cours duquel il y a accumulation de sucres (amidon et/ou sucres simples) et synthèse des composés pariétaux. Le stade III est la phase de maturation. Les changements de composition au cours de ce dernier stade sont sans doute les mieux décrits et compris en terme de physiologie.

1.2. Maturation des fruits

Selon que les fruits présentent ou non un pic dans la vitesse de respiration lors de leur maturation, ils sont classés en fruits climatériques (pomme, poire, banane, melon, etc.) ou non climatériques (agrumes, raisin, fraise, etc.). Le terme climatérique[1] signifie que le fruit est à une période critique de son développement puisqu'il va passer d'un état non mûr à un stade mûr précédent la sénescence.

1. Étymologie : latin classique climactericus, du grec klimaktêrikos . Qui appartient à un des âges de la vie regardés comme critiques. An ou année climatérique, toutes les années de la vie de l'homme qui sont des multiples du nombre de sept. Il ne faut pas dériver ce mot de climat, ni dire influence climatérique pour influence climatologique. (Dictonnaire *Le Nouveau Littré*, édition 2006). En anglais : Climacteric.

Reflet d'une activité métabolique intense, la crise climatérique correspond à un remaniement de la fraction azotée (protéines, acides aminés, ARN), des oses (amidon, saccharose, polyosides pariétaux), des acides organiques, des composés aromatiques, etc. Le rôle de l'éthylène dans l'induction du phénomène est connu depuis les années 1930 (Kidd et West, 1933 ; Gane, 1935 ; cités par Hulme et Rhodes, 1971). Depuis, le développement de la biologie moléculaire a permis de préciser les mécanismes de régulation de la maturation des fruits climatériques essentiellement, les données concernant les fruits non climatériques sont plus éparses.

1.2.1. Rôle de l'éthylène

L'éthylène, hormone végétale, est synthétisé à partir de la S-adénosyl-L-méthionine (SAM), métabolite abondant dans les cellules, car au carrefour de plusieurs voies métaboliques. La SAM est convertie par l'ACC synthase en acide 1-aminocyclopropane-1-carboxylique (ACC) qui est ensuite oxydé par l'ACC oxydase (ACO) avec libération d'éthylène (carbone 3 et 4 de la méthionine), du CO_2 et de l'acide cyanhydrique.

Les fruits immatures en développement, comme les tissus végétatifs, produisent de petites quantités d'éthylène. Cette production peut-être inhibée par de l'éthylène exogène et correspond au système I de biosynthèse. Il est le seul présent dans les fruits non climatériques. Lors de la maturation des fruits climatériques, le système II de biosynthèse de l'éthylène se met en place (figure 101) ; il se caractérise par une production intense d'éthylène, initiée par de faibles quantités d'éthylène et autocatalysée. Ainsi, les deux systèmes se différentient par leur susceptibilité à l'éthylène : le système I est réprimé, le système II, stimulé.

Dans les fruits climatériques, l'éthylène est perçu par un ensemble de récepteurs membranaires (ETR), probablement localisés au niveau du réticulum endoplasmique et ayant une activité kinase. En absence d'éthylène, ceux-ci répriment de façon active l'expression des gènes de réponses à l'éthylène via une série de facteurs protéiques (CTR1, MAP kinases). En présence d'éthylène au niveau des récepteurs ETR, l'activation de CTR1 est inhibée, déclenchant la transcription des gènes de régulation de réponse à l'éthylène *via* une cascade de facteurs protéique (ERF). Ces protéines, elles-mêmes facteurs de transcription, activent ou répriment certains des gènes qui contrôlent les voies métaboliques impliquées dans la maturation. Parmi celles-ci, la modification des parois cellulaires aboutissant au ramollissement des fruits et la formation de composés volatils sont les réponses les plus visibles.

Dans les fruits non climatériques le rôle de l'éthylène paraît secondaire dans le processus de maturation. Chez les agrumes, cette hormone intervient dans le changement de couleur du flavedo en stimulant la synthèse de caroténoïdes et la dégradation des chlorophylles. Dans la baie de raisin, la teneur en éthylène, toujours faible, décroît après la véraison, période d'initiation des modifications associées à la maturation. Pour d'autres fruits non climatériques l'éthylène ne semble pas avoir d'effet. Pour la fraise, l'initiateur de la maturation pourrait être la diminution du niveau d'auxine produit par les akènes.

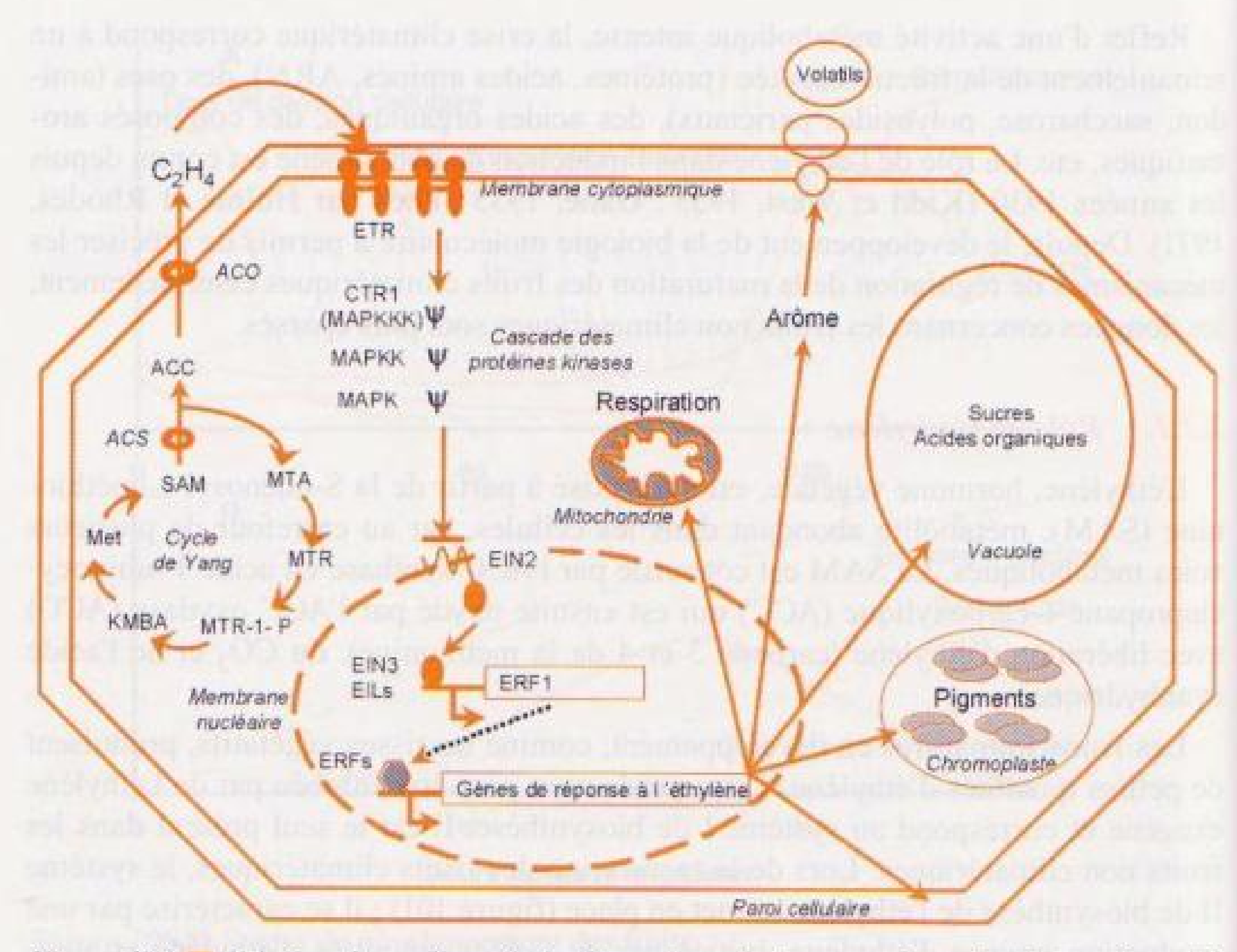


Figure 101 ■ Schéma des voies métaboliques lors de la maturation des fruits climatériques.

À gauche, biosynthèse de l'éthylène. Abréviations : SAM, S-adénosyl-L-méthionine ; ACC, Acide 1-aminocyclopronane-1-carboxylique ; ACS, ACC synthase ; MTA, 5'-méthylthioadénosine ; MTR, 5'-méthylthioribose ; MTR-1-P, MTR phosphate ; KMBA : acide 2-céto-4-méthylthiobutyrique ; Met, Méthionine ; ACO, ACC oxydase.
Au centre, perception et transduction du signal éthylène. Abréviations : ETR, récepteur de l'éthylène ; CTR1, produits du gène CTR1 à savoir des kinases : *Mitogen-activated protein kinase kinase kinase* (MAPKKK), *Mitogen-activated protein kinase kinase* (MAPKK) *Mitogen-activated protein kinase* (MAPK) ; EIN2, récepteur membranaire ; EIN3 et EILs, facteurs de transcription ; ERF, facteurs de réponses à l'éthylène (induction de l'expression des gènes).

1.2.2. Modification pariétale

Lors de la maturation, les fruits subissent un ramollissement lié à la modification de la structure des parois cellulaires. Les modifications peuvent aussi bien concerner chaque famille de polyosides (pectines, hémicelluloses, cellulose) que leurs interactions. Un grand nombre d'enzymes interviennent dans ces modifications (cf. § 2.2.) : les pectines méthylestérases (PME), les polygalacturonases (PG), les β-galactosidases, la β-D-xylosidase, l'α-L-arabinofuranosidase, l'endo-β-mannanase, les endo-β-1,4-glucanases (EGases), la xyloglucan endotransglycosylase (XET). Le rôle des expansines, protéines ayant des activités hydrolases ou transglycosidases n'est pas encore clairement élucidé ; elles pourraient favoriser l'accès des polyosidases à leur substrat en perturbant les liaisons entre les xyloglucanes et les microfibrilles de cellulose, désorganisant ainsi la structure pariétale. Si la transgenèse a permis de mettre en évidence l'implication de certaines de ces enzymes telle la

β-galactosidase dans la tomate ou la poire, de nombreuses questions restent posées. Toutes les enzymes impliquées sont-elles connues ? Quels sont les substrats de certaines enzymes ou quelles sont leurs fonctions ? Ainsi l'EGase est un exemple d'enzyme de la tomate, de l'avocat ou du poivre dont le substrat n'est ni la cellulose, ni les xyloglucanes. De même, dans la fraise mûrissante, l'accumulation de produits d'un gène ayant une homologie avec ceux codant pour la pectate lyase (PAL), une enzyme qui dégrade les pectines faiblement méthylées, peut-elle rendre compte de l'hydrolyse de la lamelle moyenne alors que l'activité PG est toujours très faible et que l'activité PAL n'est pas décelable *in vitro* ?

1.2.3. Synthèse des composés aromatiques

L'arôme est un facteur important de la qualité des fruits et des jus qui en sont dérivés. Il est composé d'un mélange plus ou moins complexe de molécules volatiles. Par exemple, plus de trois cents composés ont été identifiés dans le profil aromatique de différentes pommes, près de deux cents dans l'orange, cent quarante dans la fraise, plus de quatre-vingt dans le cassis et une cinquantaine dans la banane. Certains arômes contiennent des proportions importantes de terpènes et de terpénoïdes oxygénés (cassis, mangue, agrumes). Cette famille de composés regroupe des polymères, linéaires, cycliques ou polycycliques d'isoprène (figure 102).

CH_2

H_2C

CH_3

Figure 102 ■ Structure de l'isoprène, élément de base constitutif des terpènes.

Cependant dans les fruits charnus, les composés aromatiques les plus abondants sont généralement les esters (78 à 92 % dans la pomme) et les alcools (6 à 16 %). Ces composés sont généralement formés par estérification d'alcools et d'acyl-CoA dérivés du métabolisme d'acides gras et d'acides aminés ; cette réaction est catalysée par des alcools O-acyltransférases (AAT). De nombreuses études, sur la banane, la fraise, la pomme, ont montré que le facteur limitant la biosynthèse des esters est la disponibilité des précurseurs et non le niveau d'activité des AAT. Ceci pourrait indiquer que le niveau de la régulation de la formation des esters se fasse à une étape antérieure. Toutefois, des travaux récents sur des pommes ayant incorporé des gènes anti-sens ACO ou ACS, donc ayant une production réduite d'éthylène, ont monté une réduction importante de la synthèse des esters (– 70 %). La synthèse des précurseurs de ces esters n'étant pas affectée, l'éthylène agirait sur la régulation des AAT. D'autres enzymes clefs responsables de profils aromatiques spécifiques ont été identifiées, par exemple une O-méthyltransférase capable de former un diméthyl-méthoxy-furanone composé majeur de l'arôme de la fraise, une α-farnésène synthase dans l'épiderme de pomme ou la dioxygénase clivant les caroténoïdes de la tomate pour générer différents composés volatils (β-ionone, pseudo-ionone et géranylacétone).

2. *Biochimie des jus de fruits*

Le constituant le plus abondant d'un jus de fruit est naturellement l'eau qui représente entre 75 et 90 % de la masse. Les solutés peuvent être divisés en trois groupes selon leur importance pondérale.

Dans le premier se trouvent les composés présents de quelques grammes à quelques centaines de grammes par litre. Ils constituent l'essentiel de l'extrait sec du jus et participent à l'équilibre de sa saveur :

- les sucres solubles (100 à 200 $g{\cdot}L^{-1}$) : glucose, fructose, saccharose dans des proportions variables selon les fruits ;
- les acides organiques (2 à 15 $g{\cdot}L^{-1}$) : acide citrique dans les agrumes, acide tartrique dans le raisin, acide malique dans la pomme et le raisin, etc.

Dans le deuxième groupe, peuvent être rassemblés les composés quantitativement moins abondants mais présentant un fort impact technologique :

- les pectines (0,1 à 2 $g{\cdot}L^{-1}$) jouant un rôle dans la stabilité colloïdale et la clarification du jus ;
- les composés aminés (0,05 à 0,5 $g{\cdot}L^{-1}$) intervenant dans les réactions de brunissement non enzymatique (cf. chapitre 5 du premier volume) suite aux traitements thermiques et certaines enzymes pouvant avoir des effets favorables ou défavorables sur l'élaboration du produit et ses qualités organoleptiques ;
- les composés phénoliques (0,1 à 5 $g{\cdot}L^{-1}$), substrats du brunissement enzymatique (cf. chapitre 6 du premier volume) et également impliqués dans l'amertume et l'astringence des jus.

Dans un dernier groupe, sont réunis les solutés peu abondants comme les composés volatils et les vitamines qui participent aux qualités aromatiques et nutritionnelles des jus de fruits.

2.1. Pectines

Les substances pectiques sont des macromolécules de nature glucidique, d'origine exclusivement végétale. Elles représentent un des constituants majeurs de la paroi végétale, lamelle moyenne et paroi primaire. Au cours du pressage ou du rémiage, elles sont partiellement entraînées dans le jus mais en quantités variables selon l'état de maturité des fruits. Ainsi dans les moûts de pomme sortie de presse, la teneur en pectines augmente régulièrement de 150 à 500 $mg{\cdot}L^{-1}$ au cours de la campagne, de début octobre à fin décembre. Le jus de diffusion en contient de 75 à 250 $mg{\cdot}L^{-1}$.

Le squelette pectique est formé de l'alternance de régions d'homogalacturonanes (zones lisses) et de régions de rhamnogalacturonanes substituées par des chaînes latérales riches en sucres neutres (zones hérissées) (figure 103).

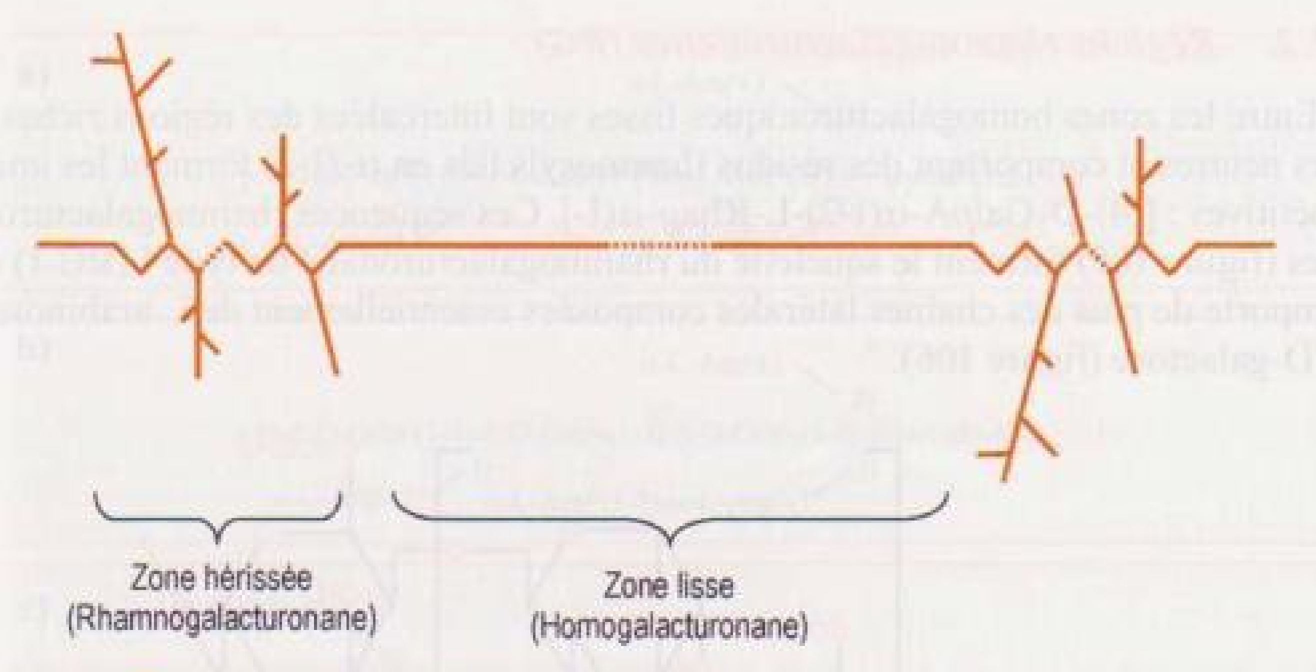


Figure 103 ■ Schéma de la structure des pectines.

2.1.1. *Régions homogalacturonanes (HG)*

Le motif monomère de cette zone est l'acide α-D-galacturonique. Les homogalacturonanes sont formés par des acides galacturoniques liés en α(1-4) formant des chaînes qui possèdent des degrés de polymérisation (DP) de l'ordre de 70 à 100 (figure 104). Les fonctions carboxyliques en position 6 des acides galacturoniques peuvent être neutralisées par des cations (Ca^{2+}, K^+, Na^+) ou estérifiées par du méthanol. Les substances pectiques sont classées d'un point de vue technologique selon leur degré de méthoxylation (DM : pourcentage molaire de fonctions carboxyliques méthoxylées) :

– acides pectiques : DM < 5 ;
– pectines faiblement méthoxylées (LM) : 5 < DM < 50 ;
– pectines hautement méthoxylées (HM) : DM > 50.

Les fonctions alcool secondaires des carbones 2 et 3 des acides galacturoniques peuvent être estérifiées par de l'acide acétique. Le degré d'acétylestérification est généralement plus faible que le DM mais peut atteindre 10 à 15 dans le cas de la poire.

Figure 104 ■ Structure de la séquence homogalacturonique des substances pectiques ; R = CH_3 ou H, Na^+, K^+, etc.

2.1.2. Régions rhamnogalacturonanes (RG)

Entre les zones homogalacturoniques lisses sont intercalées des régions riches en oses neutres et comportant des résidus rhamnosyls liés en α-(1-2) formant les unités répétitives : [-4)-D-Gal*p*A-α(1-2)-L-Rha*p*-α(1-]. Ces séquences rhamnogalacturoniques (figure 105) forment le squelette du rhamnogalacturonane de type I (RG-I) qui comporte de plus des chaînes latérales composées essentiellement de L-arabinose et de D-galactose (figure 106).

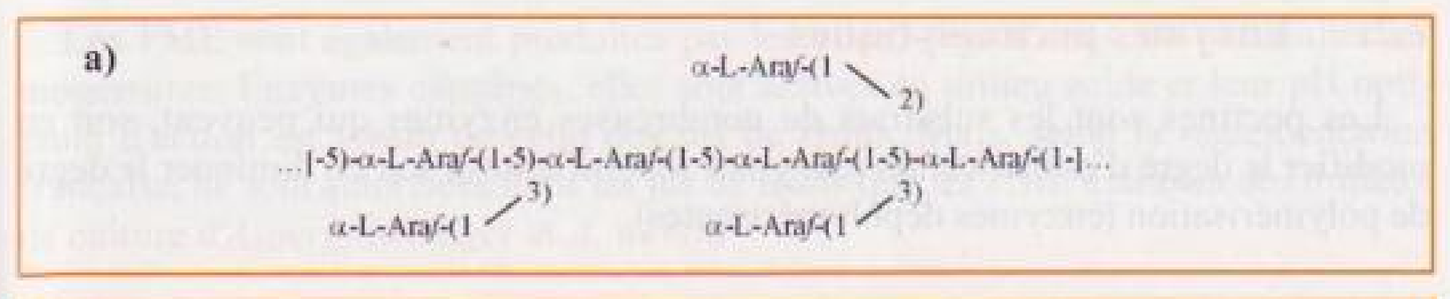
Figure 105 ■ Structure de la séquence rhamnogalacturonique des substances pectiques.

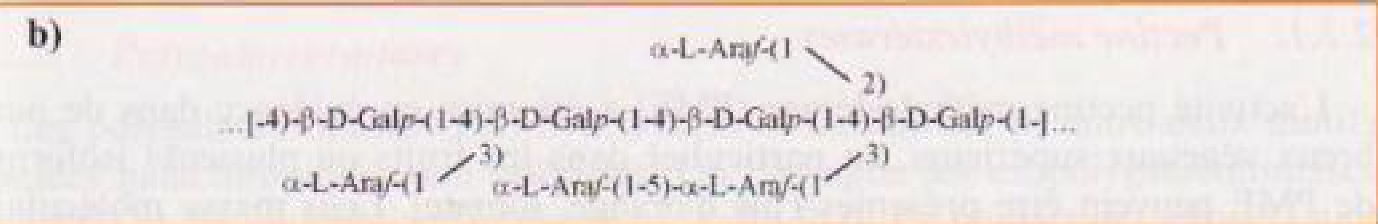
Le rhamnogalacturonane de type II (RG-II) est formé d'une chaîne principale d'acide galacturonique portant diverses chaînes latérales (figure 106). Celles-ci contiennent des résidus glycosidiques typiques des composés pectiques : L-rhamnose, fucose, L-arabinose, D-galactose et acide glucuronique. La principale caractéristique du RG-II est de posséder en plus, des sucres peu fréquents dans le règne végétal tel que le 2-O-méthyl-fucose, le 2-O-méthyl-xylose, l'apiose, l'acide acérique, l'acide 2-kéto-3-déoxy-D-manno-octulosonique (Kdo) et l'acide 3-déoxy-D-lyxo-2-heptulosarique (Dha). Dans les jus obtenus après liquéfaction enzymatique de la pulpe, le RGII est abondant.

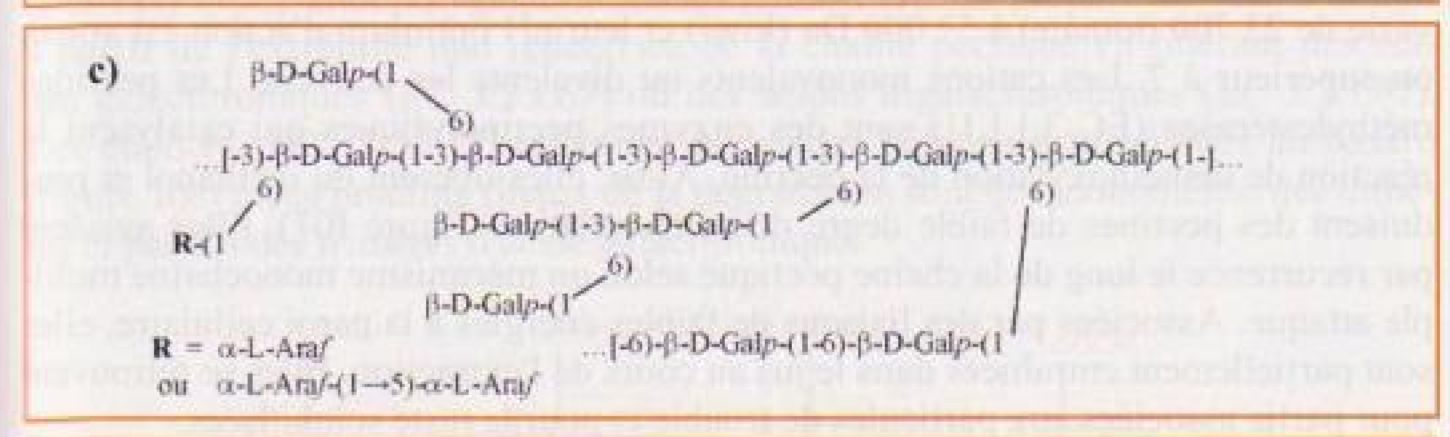
2.1.3. Quelques propriétés des pectines

Les pectines sont des colloïdes qui forment des pseudo-solutions faiblement visqueuses. En milieu acide, leur solubilité augmente avec le DM. Les pectines peuvent former deux types de gels selon leur degré d'estérification :

– les pectines HM gélifient en milieu acide (2,8 < pH < 3,4) en présence de 63 à 80 % de matières sèches solubles. Les conditions de gélification varient selon le DM. Les pectines les plus estérifiées nécessitent moins de saccharose et gélifient à des pH plus élevés que les pectines moins méthoxylées. Le pK_A des pectines est voisin de 3,3 ; à pH acide, la régression d'ionisation des fonctions carboxyliques libres réduit les répulsions électrostatiques entre chaînes. Le saccharose diminue l'activité de l'eau et donc l'hydratation des pectines. Des liaisons de faible énergie peuvent s'établir entre résidus galacturoniques appar-







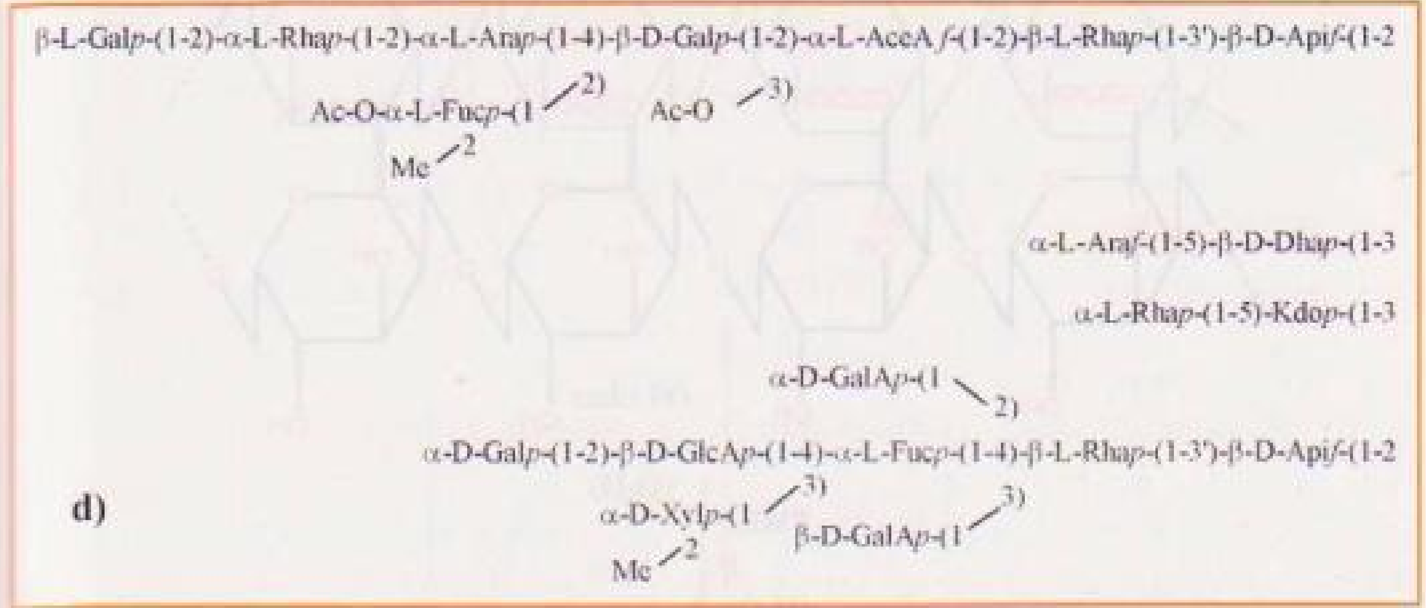


Figure 106 ■ Séquences des chaînes latérales des substances pectiques.
a) Arabinane ; b) Arabinogalactane de type I ; c) Arabinogalactane de type II ; d) Les quatre chaînes identifiées du rhamnogalacturonane II.

tenant à des chaînes différentes dans ces conditions qui peuvent être atteintes lors de la concentration de jus de fruits non dépectinisés ;

– les pectines LM gélifient en présence d'ions calcium selon le modèle « boite à œuf ». L'ion calcium hydraté forme deux liaisons électrovalentes avec deux fonctions carboxyliques de deux résidus galacturoniques appartenant à deux chaînes pectiques et des liaisons hydrogènes avec différents atomes d'oxygène de ces unités. Lorsqu'une quinzaine d'unités uroniques successives est impliquée dans ce type de structure, la zone de jonction est stable.

2.2. Enzymes pectinolytiques

Les pectines sont les substrats de nombreuses enzymes qui peuvent, soit en modifier le degré d'estérification (enzymes saponifiantes), soit en diminuer le degré de polymérisation (enzymes dépolymérisantes).

2.2.1. Pectine méthylestérases

L'activité pectine méthylestérase (PME) a été mise en évidence dans de nombreux végétaux supérieurs, en particulier dans les fruits où plusieurs isoformes de PME peuvent être présentes (jus d'orange, tomate). Leur masse moléculaire varie de 23 700 (tomate) à 57 000 Da (kiwi) et leur pH optimum d'action est voisin ou supérieur à 7. Les cations monovalents ou divalents les activent. Les pectines méthylestérases (EC 3.1.1.11) sont des enzymes pectinolytiques qui catalysent la réaction de déméthoxylation de la pectine. Ainsi, elles libèrent du méthanol et produisent des pectines de faible degré de méthoxylation (figure 107). Elles agissent par récurrence le long de la chaîne pectique selon un mécanisme monochaîne multiple attaque. Associées par des liaisons de faibles énergies à la paroi cellulaire, elles sont partiellement entraînées dans le jus au cours de l'extraction. Elles se retrouvent pour partie associées aux particules de trouble et pour le reste solubilisées.

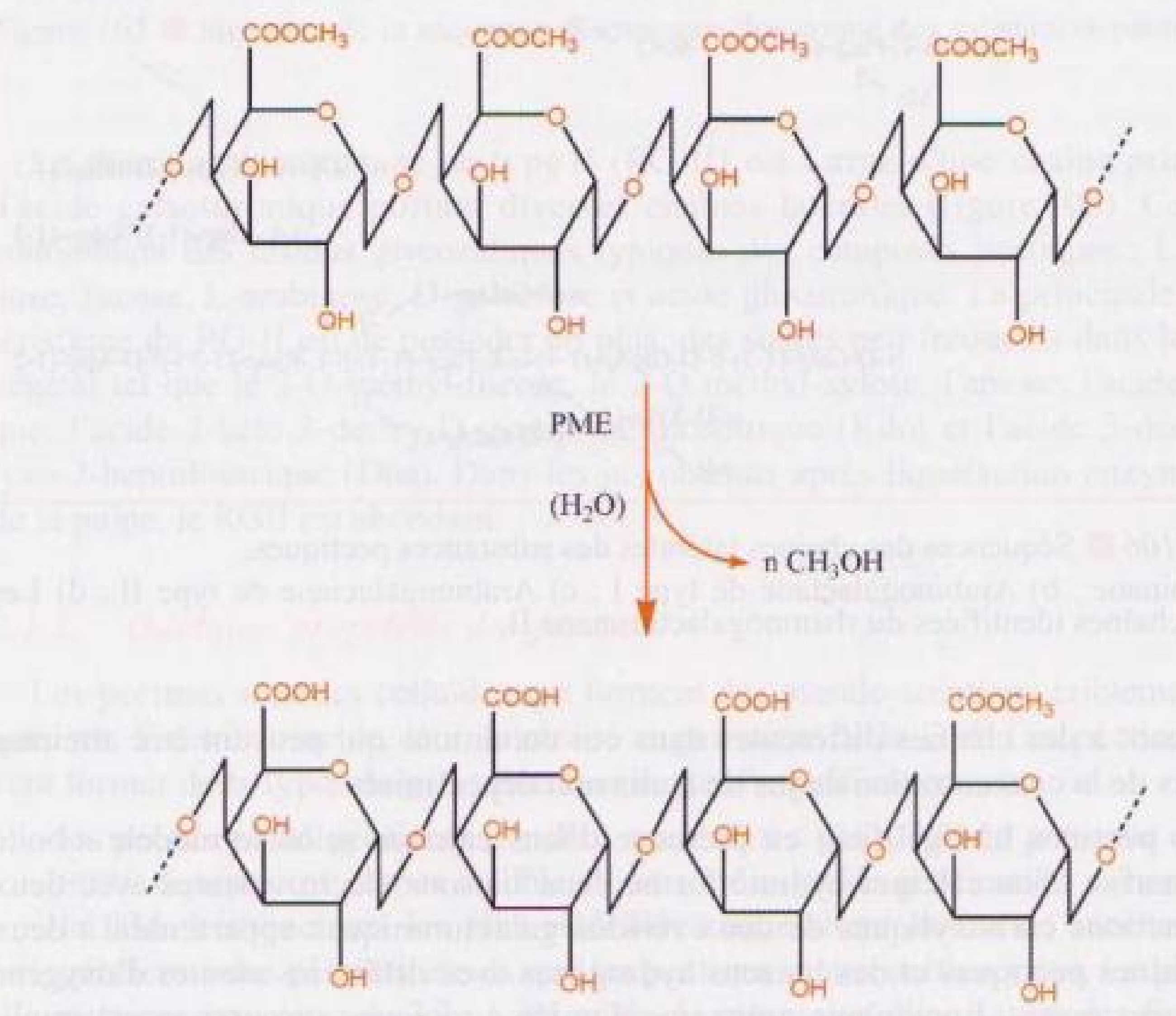


Figure 107 ■ Réaction catalysée par les pectine méthylestérases (PME).

Les PME sont également produites par les micro-organismes, en particulier les moisissures. Enzymes exogènes, elles sont actives en milieu acide et leur pH optimum d'action est voisin de celui des jus de fruits. Mais, selon la réglementation française, ne sont autorisées dans les jus de fruits que les PME extraites des milieux de culture d'*Aspergillus niger* et *A. wentii*.

2.2.2. *Polygalacturonases*

Les polygalacturonases (PG) hydrolysent la liaison α(1-4) entre deux motifs d'acides galacturoniques non estérifiés. On distingue les exopolygalacturonases (exo-PG) et les endopolygalacturonases (endo-PG). La plupart des exo-PG agit à partir de l'extrémité non réductrice de la chaîne pectique en libérant des acides galacturoniques (EC 3.2.1.67) ou des acides digalacturoniques (EC 3.2.1.82). Les endo-PG (EC 3.2.1.15) attaquent les acides homogalacturoniques au hasard (figure 108) et les produits finaux de la dégradation sont des monomères, des dimères et parfois des trimères d'acide galacturonique.

COOH COOH COOH COOH
O OH O OH O OH O OH
OH OH OH OH

endo-PG

(H_2O)

COOH COOH COOH COOH
O OH O OH OH O OH O OH
OH OH OH OH OH

Figure 108 ■ Réaction catalysée par les endopolygalacturonases (endo-PG).

Les polygalacturonases sont d'origine végétale, fongique, bactérienne ou animale (insectes). Elles ont toutes un pH optimum d'action entre pH 3,5 et 5,5. Leur substrat préférentiel est l'acide pectique. L'activité endo-PG, nulle sur une pectine de DM 75, croît avec la diminution du DM. Ainsi, PME et PG agissent de façon

synergique sur les pectines naturelles : la PME crée des séquences déméthoxylées permettant l'hydrolyse par la PG ; en retour la PG dégrade les séquences homogalacturoniques inhibitrices de la PME. Seules les PG extraites des milieux de culture d'*A. niger* ou de *A. wendii* sont autorisées dans la fabrication des jus de fruits.

2.2.3. Lyases

Les lyases agissent sur la pectine en catalysant la rupture entre deux motifs d'acide galacturonique par un mécanisme de β-élimination. On distingue les pectine lyases (PL) et les pectate lyases (PAL). Ces dernières, produites par des micro-organismes, sont inactives aux pH des jus de fruits ; elles n'ont pas d'application en technologie.

CO_2CH_3 CO_2CH_3 CO_2CH_3 CO_2CH_3
O OH O OH O OH O OH O
OH OH OH OH

PL

CO_2CH_3 CO_2CH_3 CO_2CH_3 CO_2CH_3
O OH O OH OH OH O OH O
OH OH OH OH OH

Figure 109 ■ Réaction catalysée par les pectine lyases (PL).

Les PL (EC 4.2.2.10) coupent les liaisons entre résidus d'acides galacturoniques méthoxylés (*figure 109*). Toutes les pectines lyases identifiées sont des endo-enzymes. Elles sont produites par des moisissures (genre *Aspergillus*) et par des bactéries (genre *Erwinia*). Elles n'ont jamais été détectées chez les végétaux supérieurs. Leur activité décroît avec le degré d'estérification de la pectine. De même, le pH optimum diminue de 6,5 à 5 lorsque le DM du substrat initial décroît de 95 à 65 %.

2.2.4. Arabinanases

Purifiées à partir de milieux de culture de divers micro-organismes, de nombreuses enzymes hydrolysant les différentes liaisons glycosidiques des rhamnogalacturonanes et des xylogalacturonanes ont été décrites. Seules les arabinanases dont l'activité est décelée dans des préparations pectinolytiques d'*Aspergillus* sp., présentent un intérêt dans l'industrie du jus de pomme pour la prévention des troubles d'arabinanes.

Les chaînes ramifiées d'arabinanes sont linéarisées suite à l'hydrolyse des liaisons α(1-2)- et α(1-3)-L-Ara*f* par une α-L-arabinofuranosidase de type II, endogène ou exogène (figure 110). La chaîne linéaire d'α(1-5)-L-Ara*f* s'insolubilise progressivement pour former un trouble caractéristique, en particulier dans les concentrés. L'endo-arabinanase, en réduisant le degré de polymérisation de l'arabinane prévient la formation de ce trouble. Les produits terminaux sont les di- et trimères d'arabinose. Les oligomères d'α(1-5)-L-Ara*f* sont hydrolysés par une α-L-arabinofuranosidase de type I, l'arabinose étant le seul produit de cette réaction. Les pH optimums d'action des enzymes extraites d'*A. niger* sont respectivement de 4,1, 3,7 et 5,0 pour les arabinofuranosidases I et II et l'endo-arabinanase.

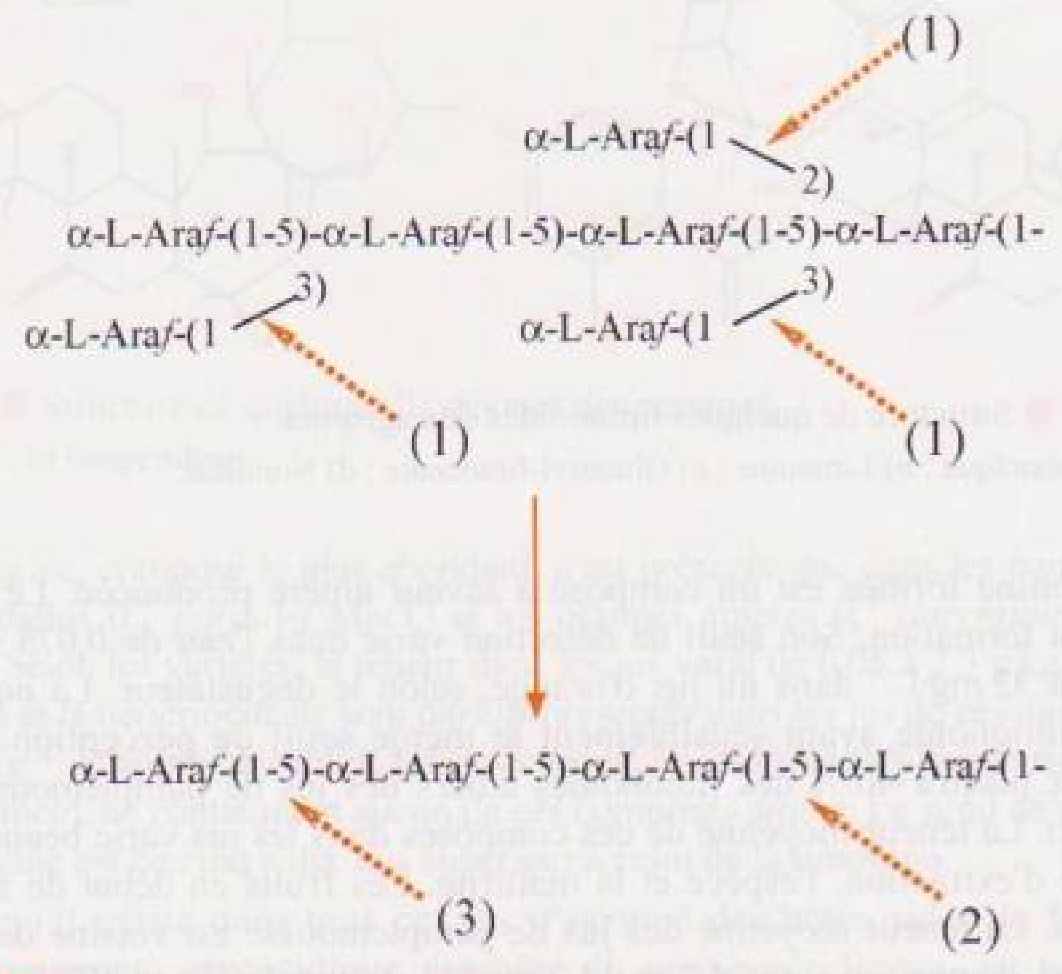


Figure 110 ■ Réactions catalysées par les arabinanases.
1) α-L-arabinofuranosidase de type II (exo-enzyme) ; 2) Endo-arabinanase ; 3) α-L-arabinofuranosidase de type I.

2.3. Composés amers et astringents

Selon les jus de fruits, différents composés peuvent apporter de l'amertume et de l'astringence. Les plus importants sont soit des dérivés terpéniques, soit des polyphénols.

2.3.1. Limonoïdes

Dans les jus d'agrume, le principal limonoïde, l'acide limonoïque monocarboxylique, est un dérivé d'oxydation d'un triterpène tétracyclique (l'apotirucallol). Il n'est pas, par lui-même, amer. Mais en milieu acide, il se cyclise pour former une deuxième fonction lactone (figure 111).

Figure 111 ■ Structure de quelques limonoïdes des agrumes.
a) Acide limonoïque ; b) Limonine ; c) Glucosyl-limonoate ; d) Nomiline.

La limonine formée est un composé à saveur amère prononcée. Le chauffage accélère sa formation. Son seuil de détection varie dans l'eau de 0,075 à 5 $mg{\cdot}L^{-1}$ et de 0,5 à 32 $mg{\cdot}L^{-1}$ dans un jus d'orange, selon le dégustateur. La nomiline est un autre limonoïde ayant sensiblement le même seuil de perception. Elle peut représenter jusqu'à 40 % des limonoïdes amers des jus de pamplemousse (*Citrus grandis* L.). La teneur moyenne de ces composés dans les jus varie beaucoup selon le procédé d'extraction, l'espèce et la maturité. Les fruits en début de saison sont plus riches. La teneur moyenne des jus de pamplemousse est voisine de 8 $mg{\cdot}L^{-1}$. Des valeurs comprises entre 4,2 et 14,2 $mg{\cdot}L^{-1}$ de jus de citron (*C. limon* L.) ont été rapportées. Dans les jus d'oranges douces (*C. sinensis* L.) la teneur en limonine décroît rapidement avec la maturité des fruits. La présence de ce composé ne pose de réelles difficultés que dans les jus d'orange Navel. La limonine est peu soluble dans les solutions aqueuses (16 $mg{\cdot}L^{-1}$ d'eau à ébullition). Mais il existe dans les jus d'agrume un glucoside de l'acide limonoïque très soluble et pratiquement sans saveur. Dans des jus de pamplemousse, Fong *et al.* (1989) en signalent une teneur moyenne de 120 $mg{\cdot}L^{-1}$. L'hydrolyse enzymatique ou chimique des limoïdes glycosylés n'a encore jamais été signalée.

2.3.2. Flavanones

Parmi les hétérosides de flavanone (figure 112), seuls ceux comportant un résidu néohespéridosyle [L-Rha-α(1-2)-D-Glc-β(1-] sont amers.

Figure 112 ■ Structure de quelques flavanones des agrumes.
a) Naringine ; b) Hespéridine.

La naringine, composé le plus abondant, n'est présente que dans les pamplemousses, les pomelos (*C. paradisi* Macf.) et les oranges amères (*C. aurentium* L. subsp *amara* L.). Selon les variétés, la teneur dans les jus varie de 0,05 à 2,3 $g{\cdot}kg^{-1}$; la néohespéridine et la néoériocitrine sont parfois présentes dans les jus de ces agrumes jusqu'à 0,4 $g{\cdot}kg^{-1}$. D'autres agrumes, tels les citrons, les oranges, les mandarines (*C. reticulata* Blanco), ne contiennent aucun de ces composés amers. Le seuil de perception de la naringine est de cinq à dix fois supérieur à celui de la limonine.

Notons qu'il existe dans tous ces jus d'agrume des hétérosides de flavanones dont le groupement glycosidique, isomère du néohespéridinose, est le ruténose [L-Rha-α(1-6)-D-Glcβ-(1]. Ils n'ont aucune amertume. L'hespéridine, le plus abondant, peut atteindre une concentration de 3 $g{\cdot}kg^{-1}$ dans certains citrons (par exemple, var. *Santa Teresa*). Dans le jus d'orange, sa teneur ne dépasse pas 0,6 $g{\cdot}kg^{-1}$. Les autres dérivés du ruténose (didyme, ériocitrine, narirutine, etc.) ne sont en quantités significatives que dans les jus de citron (0 à 0,1 $g{\cdot}kg^{-1}$). Dans les pamplemousses ou les pomelos, tous ces composés sont généralement présents à l'état de trace. Moins solubles que les composés amers, ils peuvent précipiter sous forme d'aiguilles cristallines au cours du stockage du jus.

2.3.3. *Proanthocyanidols*

Les formes oligomères et polymères des flavane-3-ols constituent les proanthocyanidols (cf. chapitre 6 du premier volume). Le terme de « tanins condensés » est parfois utilisé pour dénommer les formes hautement polymérisées. Selon les végétaux, les proanthocyanidols présentent des structures très variables. Celles-ci peuvent se différencier sur la base des unités monomériques les constituant (catéchines, gallocatéchines estérifiées ou non par l'acide gallique), la nature et le nombre des liaisons interflavaniques entre monomères (une ou deux ; C_4-C_8 ou C_4-C_6 dans la série B ; C_4-C_8 ou C_4-C_6 et C_2-O-C_5 ou C_2-O-C_7 dans la série A) et la stéréochimie de l'ensemble, la liaison interflavanique (de type B) générant un nouveau carbone asymétrique en C_4 en plus de ceux en C_2 et C_3. Les procyanidols sont constitués d'unités (+)-catéchine et (–)-épicatéchine ; les prodelphinidols présentent dans leur structure des unités de types gallocatéchine et/ou épigallocatéchine éventuellement galloylées.

Dans la pomme, seuls des procyanidols de type B, constitués d'unités épicatéchine, ont été observés, la catéchine pouvant être trouvée en position terminale. Leur degré de polymérisation varie de 2 à plus de 250. Ils constituent les composés phénoliques pondéralement les plus abondants dans ce fruit. Les prodelphinidols, absents de la pomme, sont significativement présents dans le raisin. Les proanthocyanidols n'ont jamais été signalés dans les agrumes et leur jus.

Au cours de l'extraction des moûts, ces composés, accumulés dans la vacuole, sont partiellement adsorbés sur les composés pariétaux (en particulier les pectines), les plus polymérisés étant préférentiellement retenus. Présents dans les jus, ils leur apportent amertume et astringence. En ce qui concerne les procyanidols de la pomme dans l'eau, le DP 4 apporterait plus d'amertume alors que les DP 7 et 8 seraient responsables de l'astringence. Toutefois, la matrice (acide, sucre, alcool, autre composé phénolique, polyosides) dans laquelle est dissous le polymère module fortement sa perception.

Par ailleurs, les proanthocyanidols ne sont pas substrats des polyphénol oxydases (cf. chapitre 6 du premier volume) mais peuvent être impliqués dans les réactions d'oxydoréduction couplées avec les *o*-quinones d'autres composés phénoliques ou dans des réactions d'addition. Les propriétés organoleptiques de ces composés néoformés ne sont pas connues : contribuent-ils à augmenter ou à diminuer l'amertume ou l'astringence des jus ?

3. *Technologie des jus de fruits*

3.1. Préparation des fruits

À réception à l'usine, les fruits sont généralement stockés quelques jours dans des conditions limitant leur altération. Ils sont alors lavés et les fruits altérés sont éliminés manuellement ou à l'aide de dispositifs automatiques. Les pommes, stockées jusqu'à une semaine sur des aires bétonnées en tas ne devant pas dépasser un mètre de haut, sont flottées dans des caniveaux hydrauliques jusqu'au hall de préparation ; un premier tri s'effectue car seules les pommes saines flottent. Elles

sont prises alors dans une laveuse à vis inclinée. La puissance des jets d'aspersion permet l'élimination des parties de pommes abîmées, des feuilles et des herbes provenant du verger. Les agrumes sont stockés au maximum cinq à six jours, le plus souvent moins de 12 h, dans des silos à plans inclinés de façon à limiter l'écrasement dû à la hauteur. Ils sont acheminés sur des tapis roulants jusqu'aux tables à mirer. Le tri est manuel. Ils sont alors lavés et éventuellement désinfectés à l'aide d'agents chlorés. Les petits fruits rouges (fraise, framboise, mûre, myrtille, cassis, raisin, cerise, griotte, etc.) sont beaucoup plus fragiles. Ils doivent être traités le plus tôt possible après la cueillette pour éviter la fermentation et autres altérations. Ils peuvent parfois être conservés quelques jours, réfrigérés. Sensibles aux chocs, ils doivent être transportés et livrés en petits containers (6 à 20 kg). Les impuretés, telles les feuilles ou les petites branches, sont éliminées par des appareils à soufflerie. Généralement les petites baies et les fruits à noyau ne sont pas lavés ou, s'ils le sont, c'est à l'aide d'élévateurs équipés de rampes d'aspersion à faible pression.

3.2. Prétraitement

Les prétraitements des fruits varient selon chaque espèce. Les pommes et les poires sont réduites en cossettes à l'aide de râpes ; une pale rotative les propulse sur des couteaux ou des grilles perforées interchangeables qui assurent leur désintégration en râpure. La finesse de la râpure, qui intervient sur le rendement de pressage, est adaptée par modification des couteaux ou des grilles selon la maturité des fruits ; la râpure est pompée jusqu'à la presse ou tombe directement dans la trémie d'alimentation de celle-ci. Les agrumes sont simplement calibrés en deux ou trois classes et acheminés vers les extracteurs adaptés à chaque calibre de fruit. Les cerises sont équeutées dans des appareils à rouleaux caoutchoutés tournant en sens inverse et pinçant les queues. Les fruits à noyau sont dénoyautés, soit par des dénoyauteuses rotatives, soit dans des pulpeurs après un premier traitement thermique à la vapeur.

3.3. Pressage

Actuellement, deux grands types de pressoirs sont utilisés pour le traitement des pulpes de fruits : les pressoirs discontinus, à paquets ou à corbeille, et les pressoirs continus à bandes. Des appareils spécifiques ont été développés pour les agrumes. Enfin, pulpeurs, extracteurs centrifuges, raffineuses sont utilisés pour le traitement de produits particuliers : fruits exotiques, tomate, abricot, etc.

3.3.1. Pressoirs discontinus

Les pressoirs à paquets sont encore utilisés à l'échelle de la production fermière et parfois artisanale de jus de pomme mais ils ont disparu des usines des pays occidentaux en raison de leur faible productivité. Le gâteau de pressage est constitué d'un empilement de « paquets » de râpure retenus par une toile et drainés par une plaque ajourée appelée « maie ».

Les presses à corbeilles sont constituées d'un cylindre équipé de drains. La râpure introduite en discontinu dans ce cylindre est mise en pression par un piston ou par une membrane. L'automatisation d'une succession de mise en pression, de décompactage et d'homogénéisation de la râpure permet d'éviter la formation de zones mal extraites. Elles autorisent le travail de pratiquement tous les types de végétaux. Leur conduite programmable permet d'adapter la pression aux caractéristiques physiques de la matière première de façon à obtenir le meilleur rendement. Le système, entièrement clos de l'introduction du fruit jusqu'à la sortie du jus, assure une bonne qualité hygiénique au produit. De plus, certains modèles peuvent être équipés d'un dispositif de mise sous gaz inerte de façon à limiter l'oxydation du jus.

3.3.2. Presses à bande

La conception des presses à bande dérive du principe des presses à paquets ou des filtres-presses. La pulpe, déposée sur une toile, est pressée en couche mince pour favoriser l'écoulement du jus. Les premières presses à bande n'étaient que semi-continues : les phases de chargement/vidage et de pressage restaient successives. Actuellement, de nombreux modèles de presse à double bande permettent réellement un travail en continu. Le lit de pulpe est entraîné entre deux toiles sans fin au travers d'un train de rouleaux et de contre-rouleaux dont l'écart, en se réduisant, exerce une pression progressivement croissante sur la pulpe. Le jus s'écoule au travers de la toile inférieure dans un bac collecteur. Puis, les toiles s'écartant en bout de machine, le résidu tombe dans une trémie d'évacuation. Un dispositif de batteurs et des jets d'aspersion assurent le nettoyage des toiles.

3.3.3. Aides au pressage

Diverses techniques sont mises en œuvre pour augmenter le rendement d'extraction des sucres. Dans le cas du traitement des pommes, l'addition d'eau (10 à 20 % en volume) au cours du rebêchage (pressoir à corbeille) ou par rémiage des marcs et nouveau pressage (pressoir à bandes) ou bien encore par diffusion à contre-courant aboutit à l'épuisement complet du marc.

Le prétraitement de la pulpe à l'aide de préparations enzymatiques spécifiques riches en PG (cf. § 2.2.) ou l'addition de PME et/ou de sels de calcium (le plus souvent du carbonate) favorise l'expression du jus en modifiant la texture de la pulpe et la viscosité du jus.

3.3.4. Extracteurs pour agrumes

La présence d'huiles essentielles dans le flavedo interdit le pressage de la totalité du fruit. La quantité maximale d'huile dans le jus ne doit pas dépasser 0,015-0,02 % (v/v).

Les machines les plus anciennes sont les extracteurs rotatifs. Les fruits sont placés dans des alvéoles semi-sphériques évidées sur la surface de deux tambours (extracteur Colin) tournant en sens contraire. La rotation entraîne les fruits ainsi maintenus sur un couteau. Chaque demi-fruit, restant dans son alvéole, se place

devant une tête d'extraction en matière synthétique. Celle-ci est animée d'un double mouvement de translation et de rotation de façon à venir presser les carpelles sans risquer de provoquer l'éclatement des pépins. Éclatés, ceux-ci pourraient libérer des composés amers préjudiciables à la qualité du jus. Donnant des jus de meilleure qualité, les extracteurs Brown à table horizontale ou verticale fonctionnent sur le même principe, mais la vitesse de déplacement des têtes d'extraction et la pression qu'elles exercent sont contrôlées de façon à s'adapter à l'épaisseur de l'écorce.

Pour éviter l'extraction des huiles essentielles de l'épiderme lors de la montée en pression, les fruits sont préalablement passés dans un extracteur d'huiles : ils sont entraînés sur des rouleaux munis de petites aiguilles qui perforent les cellules sécrétrices de l'épiderme. Les huiles essentielles sont recueillies dans de l'eau circulant en sens inverse.

L'extracteur de jus *in-line* développé par FMC est basé sur un principe différent de celui des extracteurs Colin ou Brown : le contenu de l'agrume est aspiré au moyen d'un système de canules de sorte que le jus n'est jamais en contact avec les huiles. Pour optimiser le rendement, la taille de la tête doit être adaptée au calibre des fruits.

3.4. Traitement des jus de fruit

Le jus brut extrait, ou moût, doit subir des traitements pour en assurer la stabilité colloïdale ou la clarification. Selon le produit souhaité, les procédés technologiques mis en œuvre diffèrent mais ils ont tous pour but le contrôle des réactions biochimiques liées aux macromolécules présentes (polyosides, protéines, polyphénols). L'irruption des enzymes dans ce secteur industriel a profondément modifié les techniques de fabrication. Une bonne connaissance des phénomènes est indispensable à l'optimisation de chaque étape du traitement. De plus, la maîtrise des conditions de production et de purification de ces enzymes d'origine microbienne, permet de promouvoir de nouvelles préparations mieux adaptées aux différents problèmes technologiques en reformulant des associations.

3.4.1. Stabilisation des jus troubles

3.4.1.1. Nature et composition du trouble

Le trouble dans les jus de pomme ou de poire est dû à la fois à l'opalescence des colloïdes pectiques en pseudo-solution (diamètre < 0,1 µm) et aux particules en suspension, stabilisées par les pectines insolubles qui jouent le rôle de colloïdes protecteurs. La taille de ces particules est comprise entre 0,5 et 10 µm. Les éléments plus gros, constitués de débris cellulaires ou d'amas de cellules sont considérés comme les pulpes mais ne participent pas au trouble du jus. La stabilité des particules de trouble a fait l'objet de nombreuses études dans les années 1960 (Endo, 1965 ; Yamasaki *et al.*, 1967). La couche extérieure des particules, constituée de pectines, est chargée négativement ; le noyau est formé de protéines, chargées positivement au pH des jus. De telles particules hydratées donnent des suspensions stables en raison de leur petite taille et des répulsions électrostatiques. Leur sédimentation

est également réduite par la viscosité du milieu due aux pectines solubles. Le blanchiment de la râpure avant extraction ou le traitement thermique immédiat du jus conduit à des particules plus petites qui sont plus stables.

Dans les jus d'agrume la taille des particules en suspension varie depuis celle de cellules (les « sacs à jus ») et de fragments cellulaires de plus de 100 µm jusqu'à celle de complexes macromoléculaires inférieurs à 0,1 µm. Les particules les plus grosses, si elles contribuent à l'aspect pulpeux du jus, n'interviennent que peu sur sa turbidité. Seules les particules comprises entre 0,4 et 5 µm, environ, constituent le trouble. Elles sont constituées approximativement d'environ 34 % de protéines, 32 % de pectines, 25 % de lipides et de petites quantités de cellulose et d'hémicellulose. Des cristaux d'hespéridine sont également présents dans le trouble ; la pectine serait le site de nucléation pour la formation du cristal d'hespéridine. Une telle interaction est spécifique des pectines désestérifiées par voie enzymatique jusqu'à des DM voisins de 10 %.

3.4.1.2. Mécanisme de la déstabilisation

L'accident le plus fréquemment observé dans les jus de fruits naturellement troubles est leur clarification spontanée au cours du stockage. Sous l'action de la PME endogène, les pectines solubles gélifient sous forme de pectinate de calcium emprisonnant les particules en suspension. Puis le gel se rétracte par synérèse laissant exsuder un sérum limpide.

Dans un système modèle, tamponné à pH 3,8, la gélification est initiée par de la PME d'écorce d'orange lorsque le DM de la pectine passe de 75 à 64 %. Puis la saponification se poursuivant, le pectinate de calcium précipite, entraînant les particules. La clarification est achevée lorsque les pectines ont atteint un DM proche de 40 % pour les jus de pomme et 38 à 27 % pour les jus d'orange, selon le DM initial et la concentration des pectines, de l'activité PME et de la teneur en calcium. Les complexes hespéridine-pectines de DM 25 % floculent en présence de 100 ppm d'ions calcium. La teneur en calcium des jus (30 à 120 ppm) est suffisante pour permettre la précipitation des pectines partiellement déméthoxylées.

3.4.1.3. Prévention de la déstabilisation

L'addition de chélateurs d'ions calcium dans les jus n'étant pas autorisée, les seules possibilités de prévenir la déstabilisation des jus troubles sont, soit la dégradation des pectines solubles, soit l'inhibition de l'activité PME. L'emploi de polygalacturonase prévient la formation du gel en dépolymérisant la pectine au niveau des séquences déméthoxylées. Mais, on observe une floculation partielle des particules et leur sédimentation rapide. Reste la dénaturation de la PME par la chaleur ou les hautes pressions.

▶ TRAITEMENTS THERMIQUES

De nombreux résultats concernant le traitement thermique des jus d'agrumes ont été publiés. Le traitement optimal est un compromis entre la dénaturation la plus complète possible de la PME et la préservation des qualités organoleptiques des

jus. Le traitement peut aller de 1 min à 70 °C pour un jus de citron à pH 2,3 jusqu'à 5 min à 92 °C pour un jus d'orange à pH 3,8. Cependant, une faible activité PME résiduelle, due à la présence d'une isoforme thermorésistante, est généralement décelable. Pour limiter les conséquences de cette activité sur la stabilité du trouble, les jus concentrés sont congelés et conservés à basse température (– 18 °C). Pour réduire l'effet de la concentration et du stockage sur la perte des qualités du produit, une fraction de jus frais est ajoutée soit au moment du conditionnement (technique *add-back*), soit au moment de la production (technique *cut-back*). Une autre technique consiste à séparer les éléments figurés du jus, de la phase limpide, par centrifugation ou microfiltration tangentielle (procédé *Fresh note*). Le jus limpide est préconcentré par osmose inverse puis concentré classiquement jusqu'à 65 °Brix. Après lavage à l'eau, les pulpes sont réfrigérées (4 °C) ou congelées (– 18 °C) jusqu'à réincorporation dans le jus lors du conditionnement (figure 113).

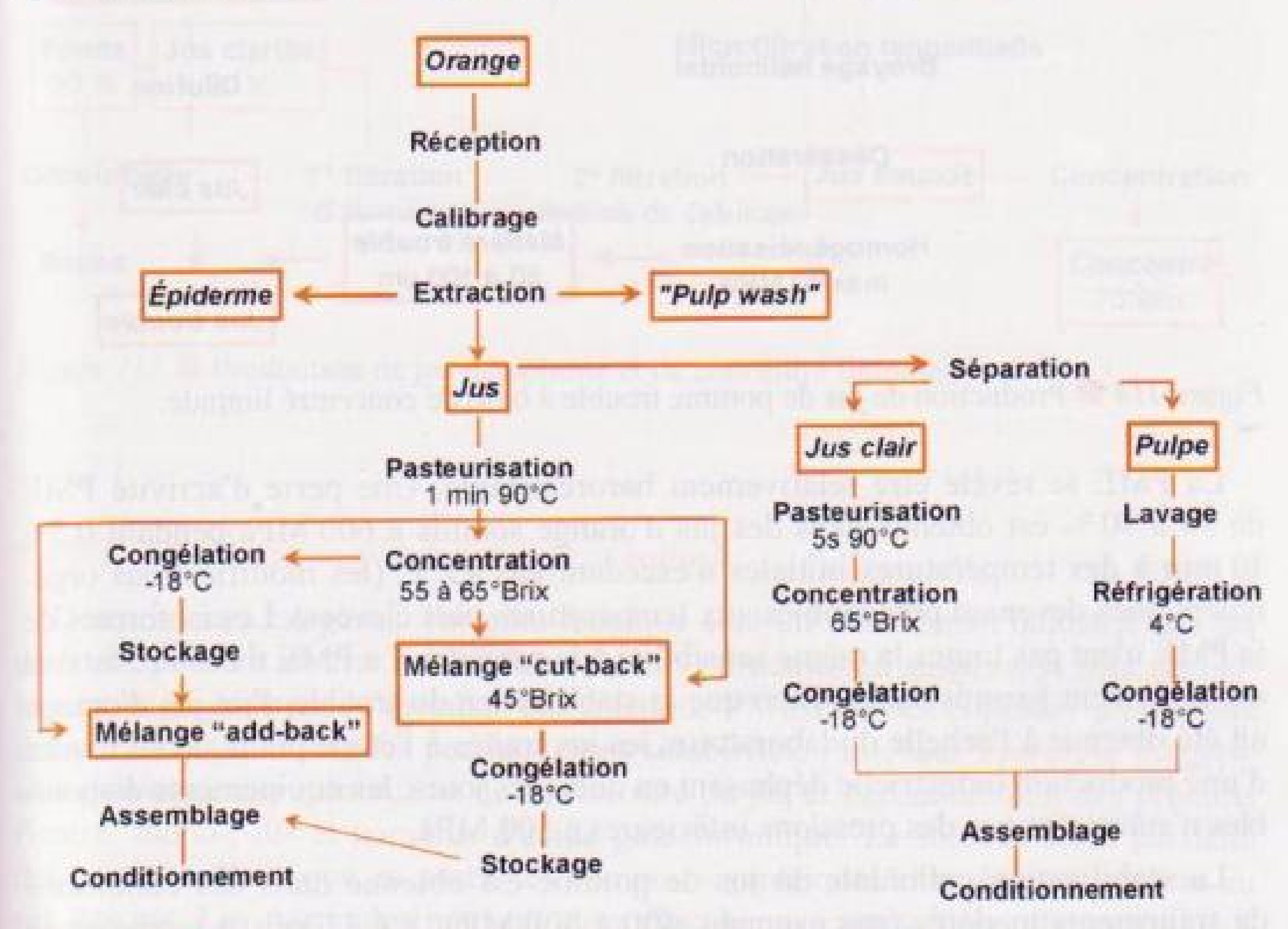


Figure 113 ■ Production des jus d'agrumes par différentes techniques. (*cut-back*, *add-back* et *Fresh note*).

Du jus de pomme trouble et stable peut être obtenu par l'addition à un jus limpide obtenu par dilution de concentré, de particules de trouble obtenu par pressage ou broyage et raffinage de pulpe de pomme thermisée (figure 114).

▸ TRAITEMENTS PAR HAUTES PRESSIONS ISOSTATIQUES

Depuis la fin des années 1980, des recherches ont été conduites pour déterminer les conditions de stabilisation des jus de fruits par des traitements à hautes pressions à température ambiante. L'intérêt du procédé est de conserver les qualités organoleptiques du jus.

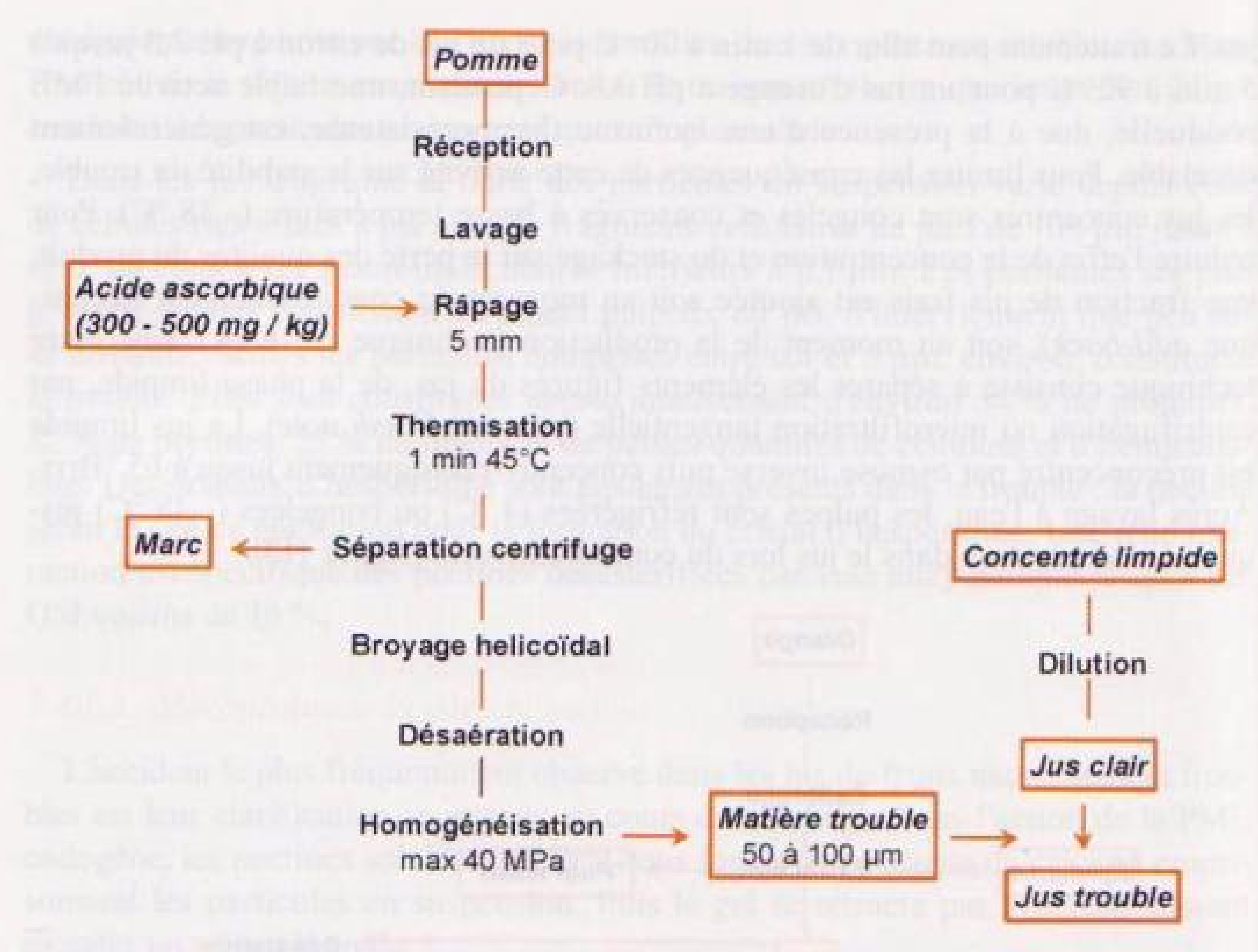


Figure 114 ■ Production de jus de pomme trouble à base de concentré limpide.

La PME se révèle être relativement barorésistante. Une perte d'activité PME de 80 à 90 % est obtenue dans des jus d'orange soumis à 600 MPa pendant 0,5 à 10 min à des températures initiales n'excédant pas 45 °C (les modifications organoleptiques devenant perceptibles aux températures plus élevées). Les isoformes de la PME n'ont pas toutes la même sensibilité à la pression. La PME thermorésistante est également barorésistante. Bien que la stabilisation du trouble d'un jus d'orange ait été obtenue à l'échelle du laboratoire, les jus traités à l'étape pilote ou au niveau d'une production industrielle déphasent en quelques jours, les équipements disponibles n'autorisant que des pressions inférieures à 500 MPa.

La stabilisation colloïdale du jus de pomme est obtenue dans des conditions de traitements modérés (par exemple, 400 à 500 MPa, 8 à 12 min, à température ambiante), bien que la PME purifiée de pomme soit plus barostable que celle d'orange. Dans les jus de pomme, l'activation de la polyphedoxydase (PPO) entre 200 et 300 MPa favorise la production d'inhibiteurs de la PME, de nature phénolique, améliorant la stabilité du jus.

3.4.2. *Clarification des jus*

De nombreux jus de fruits (petits fruits rouges, pomme, etc.) sont généralement commercialisés limpides. De plus, leur concentration au-delà de 60 °Brix nécessite la dégradation des pectines pour prévenir leur gélification. Ainsi, le jus brut, sorti du pressoir, doit être dépectinisé et clarifié (figure 115). Il ne peut être directement filtré sur des filtres à plaques, car les pectines solubles les colmatent rapidement.



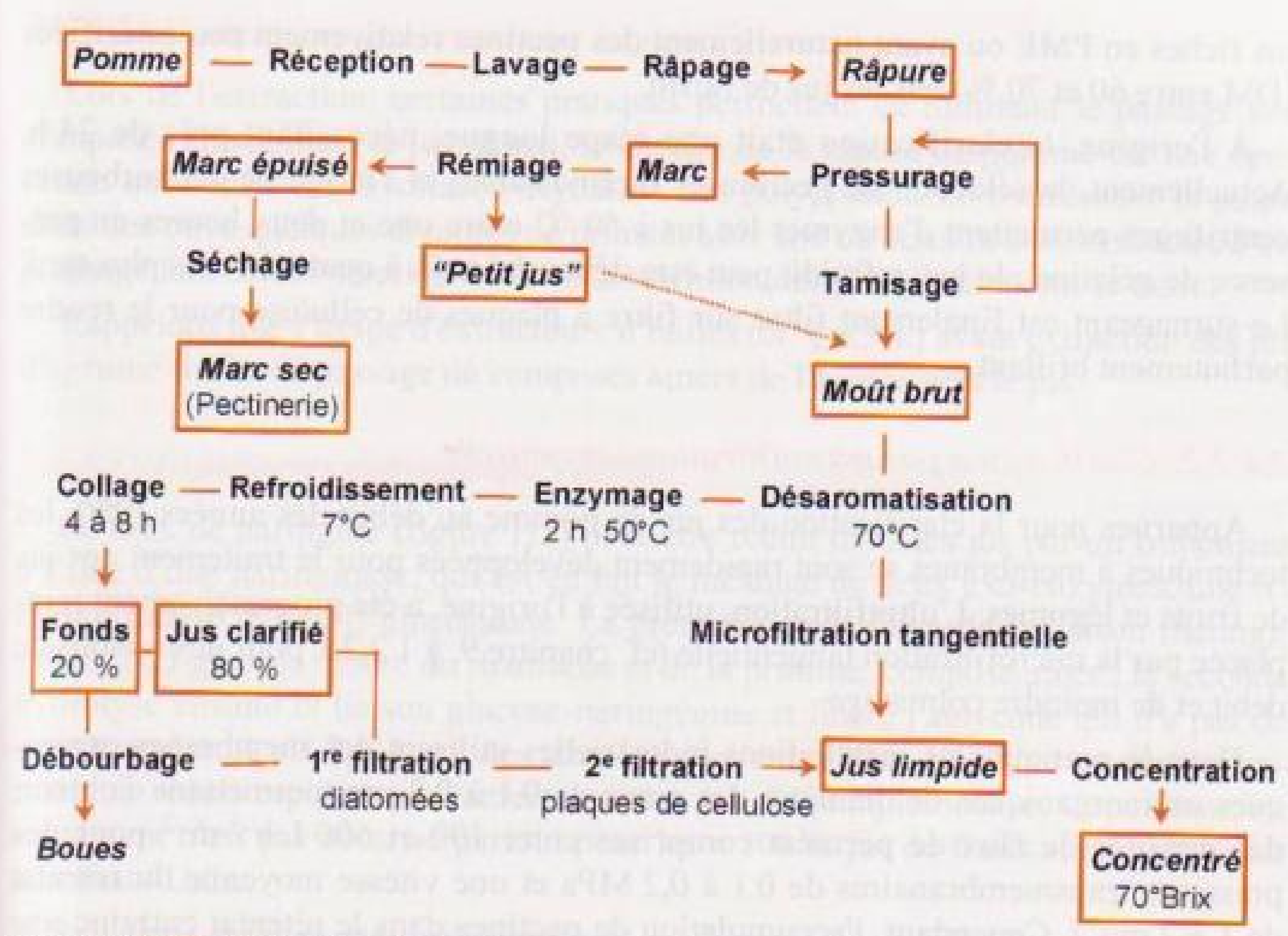


Figure 115 ■ Production de jus de pomme et de concentré limpides.

3.4.2.1. Clarification par enzymage et collage

Des enzymes exogènes d'origine fongique sont utilisées dans l'industrie des jus de fruits pour en assurer la clarification. Les particules en suspension sont partiellement dégradées par le mélange enzymatique PME/PG. Les colloïdes protecteurs des particules que sont les pectines, sont solubilisés. Puis, leur hydrolyse progressive provoque une diminution de la viscosité du jus et l'accumulation des produits finaux, mono-, di- et trimères d'acide galacturonique. La solubilisation partielle des pectines démasque en partie les composés protéiques chargés positivement au pH des jus. Les particules peuvent alors floculer par interactions électrostatiques et sédimenter d'autant plus facilement que la viscosité du milieu est réduite. Dans des jus pauvres en protéine, la floculation est favorisée par l'adjonction de protéines exogènes, le plus souvent de la gélatine. Celle-ci réagit également avec les flavan-3-ols et les proanthocyanidols ; la quantité de gélatine à mettre en œuvre pour le collage est adaptée à chaque type de jus. À l'inverse, les effets de l'excès de protéines dans le jus, susceptible de provoquer des troubles au cours de la pasteurisation (thermocoagulation) et de la conservation (insolubilisation, réaction avec les polyphénols, etc.) peuvent être corrigés par collage à la bentonite (silicate d'alumine hydraté).

Des préparations enzymatiques riches en pectinelyases peuvent également être utilisées pour l'enzymage du jus. Elles limitent la quantité de méthanol libéré à partir des pectines. Cependant, elles sont d'une efficacité limitée pour le traitement de

jus riches en PME ou ayant naturellement des pectines relativement peu estérifiées (DM entre 60 et 70 %) tels les jus de raisin.

À l'origine, la clarification était une étape longue, nécessitant près de 24 h. Actuellement, la sélection de pectinases thermostables et l'usage de débourbeuses centrifuges permettent d'enzymer les jus à 50 °C entre une et deux heures en présence de gélatine ; le jus, refroidi, peut être débourbé trois à quatre heures plus tard. Le surnageant est finalement filtré sur filtre à plaques de cellulose pour le rendre parfaitement brillant.

3.4.2.2. Clarification par microfiltration tangentielle

Apparues pour la clarification des jus de pomme au début des années 1980, les techniques à membranes se sont rapidement développées pour le traitement des jus de fruits et légumes. L'ultrafiltration, utilisée à l'origine, a été progressivement remplacée par la microfiltration tangentielle (cf. chapitre 9, § 1.2.2.), pour des raisons de débit et de moindre colmatage.

Dans la pratique, les installations industrielles utilisent des membranes organiques ou inorganiques de diamètre des pores de 0,1 à 0,2 µm, permettant d'obtenir des densités de flux de perméat comprises entre 100 et 600 $L \cdot h^{-1} \cdot m^{-2}$ pour des pressions transmembranaires de 0,1 à 0,2 MPa et une vitesse moyenne du rétentat de 1 à 7 $m \cdot s^{-1}$. Cependant, l'accumulation de pectines dans le rétentat entraîne une augmentation de l'épaisseur de la couche de polarisation et en conséquence de la résistance au transfert. Il en résulte une diminution progressive du débit volumique de perméat. La puissance de la pompe de circulation étant nécessairement limitée, il n'est pas possible de stabiliser dans le temps les conditions hydrodynamiques du système. Pour pallier ce facteur limitant, des enzymes pectinolytiques sont ajoutées au moût brut. Les quantités nécessaires sont réduites de moitié par rapport à celles utilisées dans la technique en batch. En effet, le module de microfiltration se comporte comme un réacteur enzymatique avec une forte concentration d'enzyme et de substrat au voisinage de la membrane. L'activité y est maximale, les enzymes étant probablement saturées par le substrat. En régime permanent, seuls les oligomères de galacturonane de DP inférieurs à 10 ou 12 sont entraînés dans le perméat.

3.4.3. Traitements de désamérisation

3.4.3.1. Traitements du végétal

L'amélioration génétique et la sélection de variétés d'agrumes pauvres en composés amers est une première approche pour résoudre le problème de l'amertume des jus. Cette démarche prend du temps et demande une restructuration importante des vergers.

Des essais de traitement des arbres ou des fruits à différents stades de développement ont été réalisés. L'application d'acide gibberellique à des pamplemousses immatures réduit de façon significative la teneur en naringine des fruits murs. Dans le cas du citron, l'application d'acide naphtylacétique aux plantules ou aux fruits après cueillette réduit de plus de 80 % l'accumulation des limonoïdes. Ces procédés, relativement onéreux, sont peu utilisés.

3.4.3.2. Modulation de l'amertume lors de l'extraction

Lors de l'extraction, certaines pratiques permettent de diminuer le passage des composés amers dans le jus. Ainsi, le cuvage de la râpure de pomme est une opération qui consiste à favoriser l'oxydation des polyphénols en maintenant la pulpe dans une cuve quelques dizaines de minutes voir une ou deux heures. Associée à un pressage lent cette opération favorise la rétention des procyanidols sur le marc.

Rappelons que l'usage d'extracteurs d'huiles (cf. § 3.3.4.) avant extraction des jus d'agrume limite de passage de composés amers de l'écorce vers le jus.

3.4.3.3. Traitements enzymatiques du jus

Le taux de naringine (figure 112) peut être réduit dans les jus par un traitement à l'aide d'une naringinase, qui est en fait le mélange de deux exo-enzymes, une α-rhamnosidase et une β-glucosidase. La première, spécifique de la liaison rhamnosyl-α-(1-2)-glucose, libère du rhamnose et de la prunine, composé amer ; la seconde hydrolyse ensuite la liaison glucose-naringénine et libère l'aglycone qui n'a pas de saveur amère. À pH 3,5-4 et à des températures entre 20 et 50 °C, ce système enzymatique réduit rapidement l'amertume des jus de pamplemousse. Cependant, ce traitement n'est pas autorisé partout pour les « 100 % jus de fruits », en particulier aux États-Unis.

Signalons qu'il existe également une exorhamnosidase spécifique de la liaison rhamnosyl-α(1-6)-glucose. Cette *hespéridinase* libère le glucosyl d'hespérétine qui, en milieu acide s'hydrolyse lentement en glucose et hespérétine, prévenant ainsi la cristallisation de l'hespéridine.

Ces enzymes n'affectent pas la teneur en limonoate du jus. Pour réduire celle-ci, des essais, ont été réalisés à l'échelle pilote, dans lesquels le jus est perfusé au travers d'une colonne de cellules immobilisées d'*Arthrobactus globiformis*, productrices d'une limonoate déshydrogénase. Cette enzyme, en oxydant la fonction alcool portée par le carbone 17, interdit la lactonisation qui conduit à la limonine (figure 116). Mais cette technique n'a pas eu de développement conséquent en raison des difficultés de sa maîtrise.

Figure 116 ■ Réaction catalysée par la limonoate déshydrogénase.

3.4.3.4. Traitements du jus par des résines

Depuis la fin des années 1980, des unités de désamérisation basées sur des résines d'adsorption ont été développées par plusieurs équipementiers. Elles fonctionnent toutes sur le même principe. Le jus, déshuilé si nécessaire, est clarifié par centrifugation ou par ultrafiltration tangentielle. Les pulpes qui représentent environ 15 % du volume, sont conservées, réfrigérées ou congelées. Le jus clarifié passe sur des colonnes de divinylbenzène de qualité alimentaire. Les limonoïdes y sont adsorbés pratiquement en totalité, les flavanones sont retenus entre 40 et 90 % selon les conditions de traitement. Les pulpes sont réincorporées dans le jus désamérisé et y apporte l'amertume nécessaire à un bon équilibre de la saveur. Cet assemblage peut se faire immédiatement ou bien après stockage du jus limpide, congelé ou concentré et congelé.

Les résines doivent être régénérées toutes les 5 à 20 h à l'aide de solutions alcalines diluées. Certains de ces équipements sont également conçus pour permettre, simultanément ou séparément, la désacidification des jus, souvent trop acides en début de campagne, à l'aide d'une résine échangeuse d'ions.

L'emploi de ces résines, considérées comme des aides technologiques, ne modifie pas les autres composants du jus par rapport au standard. Il n'a pas à être mentionné sur l'emballage du produit.

3.5. Pasteurisation, pascalisation et concentration

3.5.1. Pasteurisation

La stabilisation microbienne des jus de fruit est le plus souvent obtenue par pasteurisation (cf. chapitre 10, § 6, premier volume).

3.5.1.1. Pasteurisation après conditionnement

Le jus est introduit froid dans le contenant, bouteille de verre ou boîte métallique. Celles-ci sont chauffées après fermeture dans un bain ou sous des douches d'eau chaude ou de vapeur (pasteurisateurs tunnels), pour atteindre 75 à 85 °C à cœur puis elles sont refroidies par aspersion d'eau froide. L'eau de refroidissement des bouteilles sortantes est utilisée pour le préchauffage des bouteilles entrantes ce qui permet une récupération d'énergie notable.

3.5.1.2. Flash-pasteurisation

La flash pasteurisation consiste à porter très rapidement le jus à température élevée (95-97 °C), à le maintenir quelques secondes (10 à 50 s) à cette température, puis à le refroidir tout aussi rapidement. Elle est réalisée dans des échangeurs de chaleur à plaques ou tubulaires (faible diamètre des tubes). Les échangeurs tubulaires sont préférés pour le traitement des produits pulpeux de façon à limiter les phénomènes d'encrassement. Des échangeurs pouvant fonctionner sous pression ont également été mis au point. Ils permettent de porter le jus à des températures pouvant atteindre 130 °C, avec une réduction correspondante de la durée du traitement. Il est ainsi possible de pasteuriser le jus d'orange en 3 s à 107 °C.

▶ REMPLISSAGE À CHAUD ET AUTOPASTEURISATION

Cette méthode consiste à soumettre le jus à une flash-pasteurisation puis à le refroidir vers 82-85 °C. Après embouteillage à cette température, les flacons sont aussitôt fermés et agités de manière que le liquide chaud vienne au contact de toute la surface intérieure du récipient et l'aseptise. Après 3 à 4 min, ils sont refroidis par immersion ou aspersion.

▶ REMPLISSAGE À FROID

Après pasteurisation, le jus est refroidi jusqu'à 5-10 °C dans la dernière partie de l'échangeur. Les opérations ultérieures de conditionnement doivent être réalisées en asepsie. Le remplissage aseptique à froid a d'abord été développé pour les emballages multicouches qui ne supportaient pas les produits chauds. Ce concept a été récemment transposé aux lignes de conditionnement des liquides en bouteilles en verre ou en plastique. Le respect des règles d'hygiène les plus strictes est nécessaire afin d'éviter une contamination post-pasteurisation. Les entreprises dotées de ce système se sont équipées de salles blanches.

3.5.2. *Traitements hautes pressions*

Seuls quelques jus d'orange sont stabilisés par hautes pressions isostatiques. La barorésistance des micro-organismes n'est rapportée que pour quelques dizaines de germes. Les valeurs de D_p et z_p (coefficients similaires à ceux définis pour les traitements thermiques ; cf. chapitre 10, § 6, premier volume) sont encore plus rarement connues. Cependant, l'expérience montre que dans des jus d'orange traités à 400 ou 500 MPa, une flore résiduelle est détectable dans tous les cas. Celle-ci prolifère au cours du stockage à 4 °C des produits traités à 400 MPa. Elle ne décroît que dans les jus traités 5 min à 500 MPa. Les souches pathogènes de bactéries comme *E. coli* ou *Salmonella* sp. sont sensibles aux pressions voisines de 400 MPa.

3.5.3. *Concentration*

La concentration permet de réduire les volumes et donc le coût du stockage et du transport. Lorsqu'elle est suffisante, elle assure de plus la stabilisation microbienne par réduction de l'a_w.

La concentration des jus de fruits est obtenue à l'aide de concentrateur (cf. chapitre 10, § 2, premier volume) à trois effets (jus de pomme) ou cinq à sept effets (jus d'orange). Pour la concentration des jus d'agrumes a été développé le système *Taste*®(*thermally accelerated short time evaporator*) : un convergent-divergent en tête de l'évaporateur permet d'optimiser le mouillage des tubes (expansion du produit, sous forme liquide/vapeur) et d'accélérer le phénomène d'évaporation (en sortie du divergent, le produit détendu est à une température légèrement supérieure à la température d'ébullition), ce qui favorise les qualités organoleptiques du produit.

Les composés volatils peuvent être recueillis dans les condensats du premier étage lorsqu'ils ne sont pas extraits préalablement par stripping.

L'unité de concentration est le degré Brix (°B). Basé sur la mesure de l'indice de réfraction, il donne la mesure de l'extrait sec en équivalent saccharose. Les concentrés limpides de pomme sont voisins de 70 °B, et peuvent être conservés à température ambiante. Les concentrés d'orange (entre 60 et 65 °B), ceux de pamplemousse (55 °B) ou de citron (45 °B) sont conservés aseptiquement et congelés.

4. *Cidre*

4.1. Particularités du cidre français

Boisson traditionnelle dans l'ouest de la France, le cidre est aujourd'hui obtenu selon différents itinéraires techniques allant du plus simple (production familiale) au plus élaboré (industrie).

Les fruits utilisés appartiennent à des variétés de pommes spécifiques à cette production. Elles se distinguent des pommes de table par des teneurs élevées en composés phénoliques qui sont responsables d'une partie des caractéristiques organoleptiques du cidre ; la formation de la couleur des cidres résulte notamment de leur oxydation enzymatique par la polyphénoloxydase (PPO) tandis que l'amertume et l'astringence sont directement liées à la présence d'une partie de ces composés, les procyanidols. Une autre caractéristique organoleptique, l'acidité des jus et des cidres, est également déterminée par la matière première ; elle est due essentiellement à l'acide malique dont les teneurs sont comprises entre 40 et 100 $méq{\cdot}L^{-1}$; le pH se situe entre 3,5 et 4,3. Comparés au vin, ces pH sont plus élevés et, par conséquent, moins sélectifs à l'égard des flores d'altération, car d'une part, l'effet direct du pH est moindre, et d'autre part, l'efficacité de l'anhydride sulfureux (SO_2) en tant qu'antimicrobien est diminué.

Les cidres français fermentent pour la plupart sous l'action d'une flore « spontanée » constituée de plusieurs espèces de levures qui contribuent à la particularité aromatique des cidres : la recherche d'arômes fruités spécifiques aux cidres explique que les ensemencements systématiques y soient très rares contrairement aux autres boissons fermentées. La fermentation des cidres est lente par rapport à celle des vins et des bières. Cette lenteur relative est également souhaitée pour des raisons organoleptiques : les cidriers considèrent en général qu'une consommation de sucres supérieure à 4-5 $g{\cdot}L^{-1}{\cdot}j^{-1}$ a un impact nettement négatif sur les arômes du cidre et qu'il est préférable de ne pas dépasser une vitesse de 2 $g{\cdot}L^{-1}{\cdot}j^{-1}$. Il est probable que le critère pertinent à considérer est le niveau maximal de la population levurienne atteinte. Plutôt que de fermentation lente, il faudrait sans doute parler de fermentation à faible biomasse. Quoi qu'il en soit, un ensemble de méthodes a été retenu par les cidriers pour ralentir la fermentation.

Le cidre doit contenir une quantité non négligeable de sucre résiduel vraisemblablement, pour en atténuer l'amertume et surtout l'astringence. Cette contrainte sensorielle entraîne la présence dans le produit fini d'une source d'énergie disponible pour les micro-organismes et rend difficile la stabilisation microbienne définitive. Pour limiter le risque de croissance levurienne dans le cidre fini et garantir une stabilité commerciale, les cidriers qui cherchent à éviter la pasteurisation, doivent donc rechercher une carence en un autre nutriment suffisamment universel.

La carence azotée permet d'atteindre une stabilité suffisante pour une distribution locale.

De façon générale, il existe un véritable risque de développement de flores d'altérations lié à l'ensemble des particularités qui viennent d'être évoquées : pH élevé, « ensemencement spontané », présence de sucres résiduels mais aussi faible degré alcoolique final. Tous ces facteurs sont à l'origine d'une relative fragilité microbienne qui reste aujourd'hui l'une des principales préoccupations des élaborateurs pendant la fermentation et la conservation des cidres : ceci explique que la plupart des cidres industriels sont aujourd'hui traités thermiquement pour pallier cet inconvénient.

Compte tenu de ces particularités et de la diversité des itinéraires techniques possibles, le procédé d'élaboration des cidres sera décrit succinctement en insistant particulièrement sur les étapes clefs qui contribuent à répondre à ces contraintes principales.

4.2. Procédés préfermentaires

4.2.1. Extraction des moûts

Différentes opérations constituent cette étape : le transport, le lavage, le râpage, le pressage et l'épuisement du marc par percolation à l'eau auxquelles peut être ajouté le séchage des marcs en vue de leur valorisation.

Le pressage discontinu nécessitant beaucoup de main-d'œuvre a été progressivement remplacé par le pressage semi-continu ou continu et automatisé (cf. § 3.3.) Selon les types de presses, la performance d'extraction varie de 600 à 800 kg de « pur jus » par tonne de pomme mise en œuvre.

Dans les unités industrielles, le *marc vert* obtenu (résidu obtenu après pressage, soit entre 200 et 400 kg par tonne de pomme) est extrait sur une bande dite « bande de diffusion » fonctionnant en continu par percolation d'eau à contre-courant. Cette opération permet d'obtenir, par tonnes de pommes, environ 200 à 300 litres de « jus de diffusion » dont la concentration en sucre avoisine 60 % de celle du pur jus correspondant. Le *marc épuisé* est ensuite soit pressé puis séché pour être valorisé en pectinerie (extraction de pectine de pommes), soit évacué rapidement en alimentation animale.

Les opérations impliquées dans cette étape, pour la plupart de transfert de matière, peuvent être considérées surtout sous leurs aspects mécanique et technique. Cependant, c'est principalement au cours de cette étape qu'a lieu l'oxydation enzymatique des composés phénoliques qui entraîne la formation de la couleur du moût. Les composés phénoliques de la pomme sont situés dans la vacuole de la cellule de pomme alors que l'enzyme qui catalyse la réaction, la PPO, se situe dans les plastes. En détruisant les tissus, la fragmentation et le pressage de la pulpe mettent en contact ces deux principaux acteurs, ce qui, en présence d'oxygène amorce la chaîne des réactions de brunissement : certains polyphénols de la pomme, l'acide caféoyl quinique en particulier, sont oxydés en quinones par la PPO ; ces molécules très réactives, sont ensuite impliquées chimiquement dans de nombreuses réactions (oxydoréductions couplées avec d'autres polyphénols, condensations, etc.) qui vont former les composés plus ou moins bruns responsables de la couleur (cf. chapitre 6 du premier volume).

4.2.2. *Clarification préfermentaire*

Traditionnellement les moûts de pommes étaient souvent clarifiés avant le départ en fermentation. La méthode utilisée, appelée « défécation », consistait en une gélification des pectines du moût en présence de calcium (cf. § 3.4.1.). La rétraction du gel contenant bourbes et levures en croissance et son entraînement en sommet de cuve par les microbulles de gaz carbonique produite en début de fermentation conduisent à la formation d'une mousse brune appelée *chapeau brun*. Cette mousse est alors séparée du moût devenu limpide par soutirage de celui-ci vers une autre cuve. Actuellement, les apports de PME pour assurer une déméthylation suffisante et de calcium (4 mM) sous forme de sel soluble (chlorure de calcium) permettent de mieux maîtriser cette étape.

Pour séparer le gel et les bourbes, certaines installations industrielles utilisent aujourd'hui la flottation par des microbulles d'azote. Issu du traitement des eaux résiduaires, ce procédé consiste à dépressuriser brutalement une partie du jus préalablement saturé en azote (gaz) sous une pression d'environ 5 bars. L'effet clarifiant obtenu est analogue au procédé statique tout en évitant les aléas dus à un éventuel départ en fermentation trop rapide. Ce procédé de clarification est souvent considéré comme favorable à la qualité sensorielle des cidres finis, car les fermentations sont toujours plus lentes que celles des moûts bruts ou des moûts clarifiés autrement : dépectinisation seule, centrifugation, filtration tangentielle. Cet effet du procédé sur la fermentation est attribué à l'appauvrissement du moût en nutriments ; la baisse de la teneur en azote a longtemps été avancée pour expliquer ce résultat, mais compte tenu des faibles populations de levures atteintes pendant la clarification, l'azote soluble assimilable est peu affecté et la baisse observée concerne surtout l'azote des bourbes, qui est lui peu assimilable par les levures. Si cette opération ne permet pas seule de carencer le moût en azote, en revanche, certaines vitamines comme la thiamine, connue pour être rapidement consommées en début de croissance en particulier par des levures secondaires (non-*Saccharomyces*), peuvent être limitantes. Par ailleurs, si la clarification élimine bien les bourbes, elle élimine aussi les composés qui y sont adsorbés parmi lesquels les stérols végétaux qui sont nécessaires à la levure pour synthétiser sa membrane en absence d'oxygène. La clarification élimine également la PPO qui est essentiellement insoluble, et qui joue un rôle majeur dans la mise en anaérobiose des moûts du fait de son intervention dans les réactions d'oxydation enzymatique.

La réalité est donc vraisemblablement plus complexe et c'est fort probablement un ensemble d'effets, parfois contradictoires, qui agit sur la fermentation au cours de cette opération.

4.3. Action des micro-organismes

4.3.1. *Successions de levures et fermentation*

La fermentation du cidre se déroule sous l'action d'une succession de flores apportées par les fruits et/ou le matériel. Elle peut être artificiellement divisée en trois périodes définies par les flores qui y sont dominantes : la phase oxydative, la phase alcoogène et la maturation.

4.3.1.1. Phase oxydative

La première phase se situe après l'extraction et dure de quelques jours à deux semaines. Elle est dite *oxydative* car elle est caractérisée par la présence et le développement de levures faiblement fermentatives, également appelées *oxydatives*, dont la plus active est *Hanseniaspora valbyensis*. Bien que favorisée par la présence d'air, cette espèce est dotée d'un métabolisme fermentaire et, dans les conditions de la fermentation cidricole, son action est considérée favorable à la production d'arômes fruités. Les produits élaborés expérimentalement par une souche de *Saccharomyces* sp. seule apparaissent très neutres et peu typiques alors que la présence de *H. valbyensis* fait apparaître les notes « fruité cidre » et « ester » vraisemblablement liées à la production d'esters d'acétate et/ou à une interaction avec *Saccharomyces* sp. Une autre espèce, *Metschnikowia pulcherrima*, généralement présente et même parfois dominante après le pressage mais rapidement éliminée par l'absence d'oxygène, ne semble pas avoir d'impact. Cette phase correspond également à la latence et à un début de croissance de *Saccharomyces* sp., mais à ce stade leur population est encore insuffisante pour présenter un impact biochimique.

4.3.1.2. Phase alcoogène

La seconde phase, dite *alcoogène*, est caractérisée par l'action de levures fermentatives du genre *Saccharomyces* qui fermentent l'essentiel des sucres à raison de 10 mL d'alcool pour 17 g de sucres consommés (1 % v/v). Dans le cidre il s'agit le plus souvent de l'espèce *S. uvarum* bien que l'espèce *S. cerevisiae* responsable des fermentations viticoles et brassicoles puisse être également présente. Les faibles températures de fermentation (entre 5 et 15 °C) et le développement préalable de *Hanseniaspora* sp. expliquent vraisemblablement cette sélectivité des conditions fermentaires en faveur de *S. uvarum* apportée principalement par le matériel au moment du pressage. À populations équivalentes, cette espèce domine rapidement les levures non-*Saccharomyces* ; il en résulte que la phase oxydative ne peut exister que si la population de *S. uvarum* ou de *S. cerevisiae* est initialement faible. Ce sont également ces espèces qui consomment au cours de leur croissance l'essentiel de l'azote soluble du moût. En conséquence, la croissance ou les croissances successives de ces flores fermentatives vont permettre de carencer le milieu en azote et d'atteindre une relative stabilité microbienne sans traitement thermique.

4.3.1.3. Maturation

Faisant suite à la phase alcoogène, la maturation correspond à une fermentation très ralentie résultant de l'élimination de la biomasse fermentative par décantation/soutirage, filtration ou centrifugation. Elle se prolonge jusqu'à l'embouteillage ou jusqu'à la consommation si le cidre n'est pas stabilisé. Le maintien d'une fermentation résiduelle présente l'avantage d'empêcher la croissance des flores aérobies (bactéries acétiques, levures à voile, etc.). En revanche des espèces levuriennes à faible taux de croissance telles que *Brettanomyces* sp. peuvent s'implanter au bout de quelques mois de conservation. Cette apparition est favorisée par l'élévation des températures du printemps si la cuverie n'est pas réfrigérée. C'est également au cours de cette période que des bactéries (principalement lactiques) envahissent

le milieu. Parmi elles, *Œnococcus œni*, provoque la transformation malolactique (TML) c'est-à-dire la transformation de l'acide malique (diacide) en acide lactique (monoacide). Cette transformation est particulièrement importante dans le cas du cidre car l'acide malique en est le principal acide.

La « prise de mousse » en bouteille ou en cuve close peut être considérée comme un aspect particulier de la maturation. Il s'agit de réaliser la fin de la fermentation alcoolique dans un contenant fermé (cuve résistant à la pression ou bouteille bouchée) pour conserver le gaz carbonique endogène et rendre le cidre effervescent. La teneur en gaz carbonique des cidres se situe entre 4 et 6 $g{\cdot}L^{-1}$, ce qui correspond à la fermentation de 9 à 13 $g{\cdot}L^{-1}$ de sucre. Lorsque la « prise de mousse » a lieu en bouteille, le cidre doit être embouteillé à une teneur en sucre supérieure à celle souhaitée pour le produit à consommer ; la fermentation secondaire ultérieure dure environ deux mois. Cette méthode est la plus couramment utilisée par les producteurs fermiers ; son principal avantage réside dans sa simplicité de mise en œuvre du fait que le cidre est tranquille lors de l'embouteillage. Par ailleurs, l'absence d'intrants et la possibilité d'utiliser la mention « effervescence naturelle » sont plutôt favorables à l'image du produit. En outre, cette technique évite la formation de faux-goûts liés à l'aération des opérations d'embouteillage car, pendant la « prise de mousse », la levure consomme l'oxygène éventuellement introduit. Toutefois, cette méthode revêt un caractère aléatoire car il est difficile de maîtriser la durée et l'intensité de la fermentation alors que des levures restent actives dans la bouteille.

4.3.2. Altérations levuriennes et bactériennes

Le cidre est sensible au développement de flores d'altération qui peuvent dégrader ses qualités sensorielles. La plupart des micro-organismes indésirables sont des bactéries capables de se développer à des pH inférieurs à 4 mais d'autant plus actives que le pH est élevé. Quelques levures, en particulier *Brettanomyces* sp., sont également à classer dans les flores d'altération.

La production d'acide acétique — *piqûre acétique* — par les bactéries acétiques ne constitue plus guère un grave problème : en effet, les cidres sont maintenus en cuves sous une légère fermentation de sorte que le dégagement permanent de CO_2 suffit à empêcher la dissolution d'air. En revanche les bactéries lactiques, en particulier l'espèce *Œnococcus œni* responsable de la TML, se développent très bien en anaérobiose, certaines étant même favorisées par le développement de *Saccharomyces* sp. La TML n'est pas à proprement parler une altération, mais elle entraîne une fragilisation du cidre par élévation de son pH ; cette espèce étant hétérofermentaire, elle métabolise les sucres encore présents en acide D-lactique accompagné d'acide acétique — altération dite *piqûre lactique* — qui est perceptible lorsque la population bactérienne devient trop importante. Comme la TML des cidres se déroule toujours en présence de sucres, cette altération existe effectivement mais elle est vraisemblablement limitée par l'absence d'autres nutriments tels que l'azote.

Une autre altération reste mal maîtrisée : celle de la maladie de la « graisse » ou maladie des « cidres filants ». Il s'agit d'une production d'exopolysaccharides qui entourent les bactéries et confèrent au cidre une forte viscosité pouvant atteindre la consistance de l'huile. Les autres perceptions sensorielles ne sont pas nécessai-

rement affectées sauf si une autre altération comme la piqûre lactique se développe simultanément Cette altération est essentiellement attribuée à des bactéries lactiques, mais des travaux récents ont montré que des bactéries des genres *Bacillus* (*B. licheniformis*) et *Pediococcus* pouvaient en être responsables. Elle est très gênante car la forte viscosité rend la filtration difficile.

Une altération dite *framboisée* est particulièrement redoutée : elle est caractérisée par une production excessive d'acétaldéhyde (éthanal). Deux mécanismes sont proposés pour l'expliquer. Selon le premier, l'éthanal résulte de l'action de bactéries acétiques qui, en anaérobiose, métabolisent l'acide lactique généré principalement lors de la TML. Cependant, comme ces bactéries sont aérobies strictes et que leur croissance ne peut avoir lieu qu'en présence d'oxygène, il semble que ce mécanisme soit rare aujourd'hui, car les cidres sont rarement en contact avec l'air. Selon le second, l'éthanal est produit directement à partir des sucres par des souches de la bactérie *Zymomonas mobilis* ssp. *francensis* selon la voie métabolique d'Entner-Doudoroff. Ce mécanisme serait actuellement la cause principale de l'altération. Une fois démarré, l'accident est particulièrement difficile à contrôler, notamment par le SO_2 qui en se combinant à l'excès d'éthanal perd son efficacité. Lorsque le pH est inférieur à 3,7, l'usage préventif du SO_2 sur une faible population avant production de quantités importantes d'éthanal présente cependant une efficacité certaine. Quoi qu'il en soit, l'épuisement du milieu en azote assimilable reste le principal moyen pour éviter la croissance de la bactérie, ce qui renvoie aux techniques de maîtrise des fermentations par croissances successives de levures.

Des odeurs dites « animal », « cuir », « sous bois » peuvent apparaître dans les cidres en particulier lorsque celui-ci est maintenu à des températures élevées (> 15 °C) pendant une période longue. Elles sont liées à l'apparition de phénols volatils. Ces odeurs, dont la formation est essentiellement attribuée à des souches de levures du genre *Brettanomyces* et à certaines bactéries, sont quelquefois considérées intéressantes par certains consommateurs, à condition de rester discrètes. Lorsqu'elles dominent, les cidres deviennent repoussants. D'ailleurs, les consommateurs actuels semblent se diriger vers le refus pur et simple de ces odeurs ce qui amène à considérer leur apparition comme une altération, et d'autant plus qu'arrêter la production de ces composés à un stade « positif » semble difficile. D'une façon générale, l'évolution récente des techniques a eu un impact réel sur l'ensemble des flores d'altération car le nombre de cidres présentant des défauts clairement identifiés semble en diminution.

La généralisation de la maîtrise de la défécation, de la filtration, de l'usage du froid et de l'ensemencement par des levures sèches pour la « prise de mousse » contribue à limiter l'impact des bactéries. L'action de conseillers techniques cidricoles auprès des artisans et fermiers a permis une réduction progressive et significative des défauts les plus importants, en attendant leur élimination. Pour certaines altérations, considérées comme particulièrement gênantes, des tests ont été mis au point pour prévoir les risques et éviter les situations les plus graves en agissant sur la méthode d'élaboration. Enfin, l'acquisition de nouvelles connaissances sur les mécanismes d'apparition des altérations (micro-organismes responsables, conditions favorisant la dégradation) a déjà permis et permettra à l'avenir d'affiner la protection contre ces évolutions indésirables.

4.4. Interventions technologiques fermentaires et post-fermentaires

4.4.1. Conduite des fermentations

Traditionnellement, les cidriers opéraient des soutirages au cours de la fermentation pour éliminer la biomasse décantée et ralentir ainsi progressivement la fermentation, avec deux objectifs : éviter d'une part une fermentation rapide considérée néfaste sur le plan organoleptique, et d'autre part carencer progressivement le milieu en azote en vue de l'arrêter au moment voulu tout en conservant du sucre résiduel. Cette méthode s'avère très aléatoire car une vitesse de fermentation initiale trop élevée provoque des mouvements de convection suffisants pour empêcher la sédimentation.

Actuellement les artisans, les fermiers et une partie des cidriers ont conservé le principe de cette méthode mais beaucoup d'entre eux ont cherché à réduire son caractère aléatoire. Pour prévenir le point faible de la méthode traditionnelle résidant dans la séparation des levures du milieu en fermentation, la simple décantation a été remplacée par la filtration et surtout par la centrifugation qui est un procédé moins contraignant. L'objectif est d'obtenir une vitesse maximale de fermentation inférieure à 2 $g{\cdot}L^{-1}{\cdot}j^{-1}$, vitesse au-delà de laquelle le cidre est « marqué » par des odeurs de levures, et des vitesses moyennes de fermentation des cidres en cuves échelonnées entre 2 à 6 $g{\cdot}L^{-1}$ de sucre par semaine ; ces valeurs correspondent à des durées de fermentation comprises entre 3 et 9 mois. Cette « gestion fermentaire » de la cuverie permet ainsi de disposer tout au long de l'année d'un stock de cidres en fermentation toujours sucrés dont l'assemblage permettra la fourniture des diverses saveurs désirées. La méthode de centrifugation pour éliminer la biomasse formée, a déjà été étudiée il y a quelques décennies par les chercheurs de Long Ashton (Royaume-Uni) ; mais il s'agissait alors d'interventions tardives destinées à assurer la stabilisation fermentaire au moment d'entrer dans la phase de maturation. Dans ces conditions, le début de la phase alcoogène se fait en fermentation rapide et en forte biomasse avec des conséquences possibles sur l'arôme du produit obtenu, ce qui est contraire au but recherché par la cidrerie française.

Toutefois, l'efficacité du contrôle de la fermentation par réduction de la biomasse dépend de la teneur en nutriments du milieu fermentaire. C'est ainsi que si l'intervention a lieu alors que la levure n'a consommé que très peu de nutriments, elle est inefficace car la croissance des levures reprendra et la population (ainsi que la vitesse de fermentation) atteindra rapidement un niveau voisin de celui quelle aurait atteint sans traitement. En revanche, si la centrifugation a lieu alors que la totalité des nutriments disponibles dans le milieu fermentaire a été consommée, la levure ne pourra plus reprendre sa croissance et, par suite, la vitesse de fermentation sera quasi nulle. Aussi, pour atteindre l'objectif précité, il est proposé depuis quelques années de procéder systématiquement à une réduction décimale précoce de la biomasse quand la croissance de la levure fermentative n'est pas terminée, c'est-à-dire au tout début de la phase alcoogène. Pour ce faire, le cidre en fermentation est filtré ou centrifugé, puis assemblé avec 10 % du cidre non traité pour éviter que la reprise de la fermentation ne soit trop retardée. Dans la pratique l'opérateur ne connaît pas le potentiel nutritionnel du moût à chaque instant ; il se fonde donc sur l'évolu-

tion correspondante d'un indicateur indirect, la masse volumique. On estime que, pour la plupart des cidres, l'opération doit être réalisée après une baisse d'environ 5 à 10 points de masse volumique c'est-à-dire après consommation d'environ 10 à 20 $g{\cdot}L^{-1}$ de sucre. Si le rôle de l'azote a sans doute été exagéré dans l'effet de la clarification préfermentaire, il est en revanche déterminant dans l'efficacité de cette opération : il s'agit au cours de cette opération d'éliminer des quantités de levures comprises entre $5{\cdot}10^6$ et $1{\cdot}10^7$ $UFC{\cdot}mL^{-1}$ dont la croissance a consommé l'azote de façon significative. L'efficacité de la réduction de biomasse dépend donc surtout de la quantité d'azote assimilable résiduelle qui serait le meilleur indicateur pour piloter l'opération si ce dosage était plus facile.

Si, aujourd'hui, beaucoup d'artisans et de fermiers utilisent couramment cette méthode, les cidriers industriels ont pour la plupart opté pour une centrifugation tardive. Contrairement à la méthode précédente, l'intervention se déroule après la fin de la croissance des levures, ce qui limite la fermentation résiduelle. Cette faible fermentation peut résulter soit d'une nouvelle mais légère croissance levurienne si elle a précédemment été limitée par un facteur autre que l'azote, soit à la flore résiduelle non éliminée. Ce choix apporte plus de commodité dans la gestion des cuveries, et comme ces cidres subissent souvent une stabilisation thermique après assemblage, l'ensemble de la méthode apporte plus de sécurité vis-à-vis des altérations (dérives organoleptiques et risques liés à une re-fermentation en bouteille).

4.4.2. Opérations de conditionnement

Le cidre final est en général un assemblage de différents cidres basiques permettant de réaliser l'équilibre organoleptique souhaité en s'appuyant en particulier sur les principales saveurs (acidité, amertume, sucré) et, de façon plus subtile, sur les arômes.

Selon la limpidité souhaitée, les cidres sont ensuite soumis à divers traitements de clarification : une simple décantation, une centrifugation ou une filtration plus ou moins fine avec ou sans utilisation d'agents de collage (gélatine, bentonite, etc.). La filtration sur terre est la plus courante mais la microfiltration tangentielle tend à se généraliser.

L'effervescence peut être obtenue de deux façons : soit le cidre est saturé par injection de gaz carbonique exogène, soit il subit une fermentation de « prise de mousse » dans un contenant fermé. La première méthode, purement physico-chimique, fait appel à la diffusion d'un gaz au travers de l'interface gaz/liquide (nécessité de diviser les deux phases au maximum pour augmenter la surface d'échange) et aux lois d'équilibre de dissolution des gaz (loi de Henry), dont la constante est augmentée par une pression de CO_2 élevée et une faible température. Cette méthode est principalement mise en œuvre chez les artisans et les industriels. La fermentation de « prise de mousse » est surtout pratiquée dans les petites unités (en cidre fermier principalement), avec deux variantes : l'une consiste à réaliser cette fermentation secondaire par la levure présente dans le cidre à condition que la fermentation soit déjà suffisamment ralentie ; l'autre consiste tout d'abord à obtenir un cidre appauvri en germes par filtration fine puis à l'ensemencer par une levure sèche active, afin d'éviter les altérations et d'assurer une meilleure reproductibilité de la « prise de

mousse ». Cependant, comme la levure n'est pas éliminée en fin de fermentation, la pression finale reste difficile à maîtriser de façon précise.

Le type d'embouteillage est directement lié au mode d'obtention de l'effervescence : les cidres embouteillés effervescents (saturation au gaz carbonique exogène ou par « prise de mousse » en cuve close) doivent être embouteillés à l'aide d'une soutireuse isobarométrique qui évite le moussage en maintenant dans la bouteille une pression supérieure à la pression d'équilibre du cidre. En terme de qualité des produits, les différentes machines se différencient par leur possibilité d'éviter l'introduction d'oxygène dans le cidre. Si les cidres sont destinés à une prise de mousse en bouteille, ils sont embouteillés à pression atmosphérique par des machines plus simples et moins onéreuses.

Enfin une partie des cidres est stabilisée par traitement thermique. Du fait de l'effervescence, le traitement est réalisé après conditionnement dans des pasteurisateurs tunnels en appliquant des barèmes à basse température (aux environs de 60-65 °C) et longue durée (palier de 20 min soit environ 1 heure de durée totale). Compte tenu du pH acide des cidres, de la faible capacité de croissance des micro-organismes dans un milieu déjà fermenté et de l'absence de risques sanitaires majeurs avec ce type de produits, les barèmes utilisés sont relativement faibles. Calculés avec une valeur de z égale à 7 °C et une température de référence de 60 °C, les traitements se situent entre 70 et 270 UP (unités de pasteurisation) pour les cidres doux et entre 40 et 150 UP pour les cidres bruts.

Les opérations réalisées au cours du conditionnement entraînent parfois une dégradation sensorielle du produit fini. Parmi celles-ci sont parfois mises en cause le collage nécessaire à l'obtention d'un cidre limpide, brillant et stable sur le plan physico-chimique, et les traitements thermiques prolongés utilisés pour la stabilisation microbienne. De plus, il ne faut surtout pas négliger l'impact de l'oxydation de divers composés par l'oxygène incorporé au moment de l'embouteillage, qui est également une cause de modification organoleptique.

7

Des légumes aux produits « 4e gamme »

Les fruits et légumes « prêts à l'emploi » sont des produits frais qui ont subi des traitements de préparation tels que le parage, la découpe, le lavage et qui sont conditionnés sous atmosphère modifiée à une température positive inférieure ou égale à + 4 °C. Ils sont couramment appelés produits de « 4e gamme » et complètent la classification qui comprend les fruits et légumes frais en première gamme, les produits appertisés en seconde gamme et les surgelés en troisième gamme.

En France, les produits « 4e gamme » se sont développés dans les années 1980 pour tenter de relancer la consommation des fruits et légumes qui avait considérablement diminué dans les années 1970. Ainsi, entre 1971 et 1982, la consommation de salades vertes a baissé de plus de 25 %, tandis qu'au cours de cette même période, la consommation de végétaux plus faciles à préparer comme les tomates et les endives avait légèrement augmenté. Ces modifications des habitudes alimentaires dans les pays développés peuvent s'expliquer par l'urbanisation et l'entrée massive des femmes sur le marché du travail induisant notamment l'augmentation de la restauration hors domicile (RHD) et la diminution du temps consacré à la préparation des repas.

Face à ce constat, les nutritionnistes et les responsables des rayons fruits et légumes de grande distribution ont cherché des solutions pour relancer la consommation des fruits et légumes frais. C'est aux États-Unis (1950) et en Europe du Nord (1970) que les premières laitues iceberg « prêtes à l'emploi » sont apparues. Cependant les qualités sensorielles et hygiéniques de ces produits qui n'étaient pas empaquetés ou simplement filmés n'étaient pas satisfaisantes et leur durée de vie était limitée. Pour répondre aux exigences du marché et contraintes de la distribution, la salade a été conditionnée par unité de quatre portions environ dans un emballage hermétique pour éviter la recontamination microbienne ; la durée de vie du produit se trouvait alors prolongée d'environ une semaine. Les études réalisées en France entre 1981 et 1984 ont permis de mieux comprendre les effets des opérations unitaires de la fabrication sur la physiologie, le développement microbien et le brunissement enzymatique des feuilles de salades, et ont alors contribué au développement des produits « 4e gamme ». Ces recherches ont abouti à la mise au point d'un procédé de transformation réaliste incluant le respect de la chaîne du froid (de 0 à 4 °C) tout

au long de la production et de la distribution et ce jusqu'au réfrigérateur du consommateur. En France, la production industrielle de salades « prêtes à l'emploi » a commencé au cours de la saison 1984-1985 et les premières salades proposées étaient essentiellement des scaroles, des frisées, des chicorées italiennes rouges ou panachées, des pains de sucre, de la mâche et, un peu plus tard, des laitues de différents types : beurre, lolo, romaine et batavia. Le succès a été immédiat : 500 t en 1985 et 30 000 t en 1988. La production a ensuite subi un net fléchissement dû à un non-respect des conditions de fabrication et d'hygiène. En 1996, la DGCCRF (Direction générale de la concurrence, de la consommation et de la répression des fraudes) a alors proposé un code des bonnes pratiques des fabricants de « 4e gamme » qui a relancé la production pour atteindre 40 000 t en 1999 et plus de 100 000 t en 2005. Dans le même temps, les équipementiers de l'agroalimentaire ont développé des lignes de fabrication spécifiques à cette nouvelle industrie. Les sociétés spécialistes des gaz industriels liquéfiés ainsi que les fabricants de films ont proposé des produits destinés à optimiser la modification active ou passive des atmosphères de conservation. Enfin, les centres techniques comme le CTIFL, l'ADRIA et, plus récemment, le CTCPA se sont fortement impliqués pour le développement de l'industrie du nouveau frais en apportant aux industriels toute l'assistance technique nécessaire.

Les produits dits de « 4e gamme » étant essentiellement constitués de salades vertes, nous limiterons ce chapitre à l'étude de ces végétaux. La maîtrise qualitative de ces produits implique une parfaite connaissance des activités respiratoires des végétaux mis en œuvre et des phénomènes de brunissement enzymatique engendrés principalement par des stress d'origine mécanique. Nous présenterons ces phénomènes physiologiques avant de décrire les étapes technologiques du procédé de fabrication des produits « 4e gamme ».

1. L'activité respiratoire des végétaux

Les produits frais « prêts à l'emploi » sont des tissus vivants et qui doivent le rester tout au long de la chaîne de fabrication et jusqu'à leur consommation. L'activité respiratoire constitue le phénomène majeur de l'activité métabolique post-récolte des végétaux. Elle comprend une succession de réactions enzymatiques constituant la glycolyse et le cycle des acides tricarboxyliques (ou cycle de Krebs) avec consommation d'oxygène, production de dioxyde de carbone, d'eau et d'énergie (ATP et ADP).

1.1. Mesure et modélisation de l'activité respiratoire

La connaissance des paramètres respiratoires des végétaux est indispensable pour optimiser le conditionnement sous atmosphère modifiée. L'intensité respiratoire est exprimée en millimoles d'oxygène consommé ou de dioxyde de carbone produit par unité de masse de végétal (kg) et par unité de temps (h). Elle est évaluée soit par une méthode statique ou méthode des bocaux, soit par une méthode dynamique.

Dans la méthode statique (Chambroy, 1989), les végétaux sont placés dans des bocaux hermétiques et l'évolution des teneurs gazeuses est analysée pendant 3 à 8 heures. L'intensité respiratoire est proportionnelle à la pente de la décroissance en oxygène et de la production en dioxyde de carbone. Cette méthode est simple et rapide mais elle ne permet pas de réaliser des mesures en atmosphère stable.

Pour pallier ce problème, Varoquaux *et al.* (1999) ont mis au point un respiromètre, basé sur une méthode dynamique. Dans ce système, la composition atmosphérique dans les enceintes de mesure est maintenue constante grâce au piégeage dans une solution de soude du gaz carbonique excédentaire par rapport à la valeur de consigne. La consommation d'oxygène par le végétal et l'élimination du dioxyde de carbone produit créent une dépression dans l'enceinte de mesure. La pression initiale est alors restaurée grâce à l'injection d'oxygène pur par l'intermédiaire d'une vanne à débit massique. Ainsi, les pressions partielles d'oxygène et de gaz carbonique restent constantes au cours de la mesure. On mesure alors la quantité d'oxygène délivrée par la vanne à débit massique (durée d'ouverture x débit nominal de la vanne) en fonction du temps. La pente de la courbe « O_2 injecté en fonction du temps » permet d'évaluer l'intensité respiratoire O_2 (IR_{O2}). L'intensité respiratoire CO_2 (IR_{CO2}) est obtenue en mesurant l'évolution de la conductivité de la solution sodique (proportionnelle à la concentration de carbonate) en fonction du temps.

Plusieurs auteurs ont modélisé l'évolution de l'intensité respiratoire en fonction des teneurs gazeuses environnantes. Actuellement, l'activité respiratoire est considérée comme une succession de réactions enzymatiques de type Michaëlien et est caractérisée par le K_m apparent O_2 (concentration en substrat qui permet d'atteindre la moitié de la vitesse maximale de réaction). Peppelenbos *et al.* (1996) ont étudié l'effet du dioxyde de carbone et ont proposé une équation d'inhibition non compétitive pour modéliser le comportement respiratoire de l'ensemble des végétaux :

$$IR_{O_2} = \frac{IR_{max O_2} \cdot O_2}{(K_{m\,app O_2} + O_2) \cdot (1 + \frac{CO_2}{K_{i\,CO_2}})} \quad [19]$$

avec IR_{O_2} intensité respiratoire O_2 ($mmol \cdot kg^{-1} \cdot h^{-1}$), $IR_{max O_2}$ intensité respiratoire O_2 maximale ($mmol \cdot kg^{-1} \cdot h^{-1}$), O_2 et CO_2 les pressions partielles en oxygène et dioxyde de carbone (kPa), $K_{m\,app O_2}$ la constante apparente d'O_2 de Michaëlis-Menten (kPa) et $K_{i\,CO_2}$ la constante d'inhibition du CO_2 (kPa). À partir de cette équation, la représentation en double inverse ou représentation de Linewaever-Burk (cf. chapitre 10, § 1.2.2. ; $1/IR_{O_2} = f(1/O_2)$) permet de déterminer le $K_{m\,app O_2}$ et l' $IR_{max O_2}$. Le $K_{i\,CO_2}$ est obtenu à partir du graphe : $1/IR_{O_2} = f(CO_2)$.

Le respiromètre mis au point permet également la mesure du Km apparent après une légère modification du circuit gazeux, c'est-à-dire le remplacement de l'oxygène par de l'azote pour rétablir l'équilibre des pressions entre les cellules de mesure et de référence. Dans cette configuration de l'appareil, on mesure automatiquement la décroissance de la pression partielle d'oxygène dans l'enceinte de mesure, sous dioxyde de carbone constant (figure 117). Un ajustement polynomial d'ordre suffisant, avec un coefficient de détermination (R^2) d'au moins 0,99, permet alors d'évaluer l' IR_{O_2} en fonction du temps.

Figure 117 ■ Mesure de la consommation d'oxygène d'endives en fonction du temps et ajustement polynomial de la cinétique (20 °C) (Charles *et al.*, 2005).

Comme à chaque temps correspond une pression partielle d'oxygène, on peut tracer la courbe $IR_{O_2} = f(O_2)$. À partir de ces données on peut calculer le K_m apparent par la représentation en double inverse (figure 118).

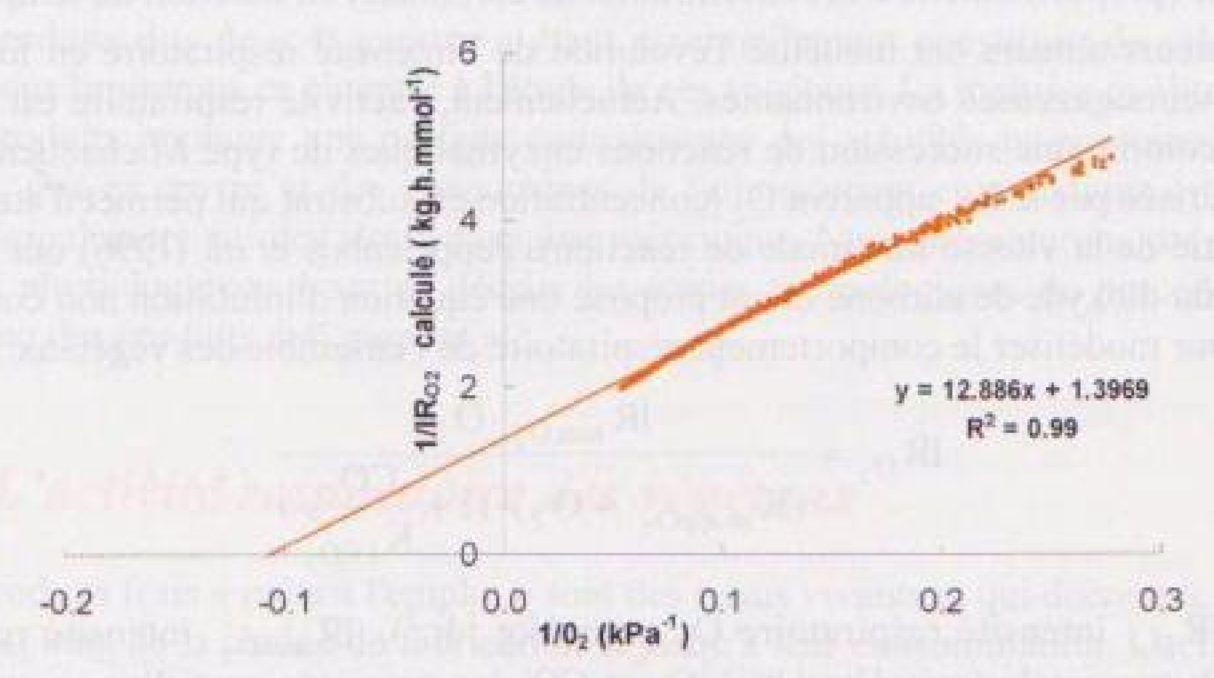


Figure 118 ■ Représentation de Lineweaver-Burk : Détermination du K_{mappO_2} et de l'IR_{maxO_2} d'endives (20 °C) (Charles *et al.*, 2005).

1.2. Maîtrise de l'activité respiratoire

La durée de vie des végétaux après récolte est inversement corrélée à leur intensité respiratoire : si celle-ci est élevée, le végétal consomme rapidement ses réserves et évolue vers la sénescence. Pour prolonger la durée de vie des produits, il est donc nécessaire de réduire leur activité respiratoire. La méthode la plus largement employée est la diminution de la température de conservation au-dessus du point de gelure pour éviter les désagréments de la maladie physiologique du froid (*chilling injury*). L'effet de la température sur la chaîne respiratoire est caractérisé par son énergie d'activation (E) d'après l'équation d'Arrhénius (équation 96, premier volume) selon laquelle le logarithme népérien de l'intensité respiratoire est proportionnel à

l'inverse de la température absolue (K). Ces grandeurs sont délicates à appréhender, c'est pourquoi les technologues utilisent une approximation, appelée loi de Gore, fondée sur une proportionnalité entre le logarithme décimal de l'intensité respiratoire et la température (en °C). D'après cette loi, il est possible de caractériser l'effet de la température sur la respiration par le calcul du Q_{10} (équation 151, premier volume). Ce dernier correspond au rapport des vitesses de respiration obtenues à θ et $\theta + 10$ °C. Pour la plupart des fruits et légumes, le Q_{10} se situe entre 2 et 3.

L'activité respiratoire des produits « 4e gamme » peut également être réduite en modifiant l'atmosphère interne des sachets et plus particulièrement en diminuant les teneurs en oxygène. Nous détaillerons cette technique de conditionnement à la fin de ce chapitre.

2. *Brunissement enzymatique*

2.1. Mécanisme et évaluation

Le stress de blessure appliqué aux végétaux entraîne des réactions de brunissement enzymatique qui représentent le facteur le plus important de la perte de qualité des salades prêtes à l'emploi. En effet, les stress de blessure provoquent une délocalisation cellulaire et une mise en contact des substrats (composés phénoliques à localisation principalement vacuolaire) et des enzymes d'oxydation (cytosoliques ou membranaires). Cette modification de la compartimentation cellulaire est indispensable pour que le brunissement se déclenche. Les enzymes impliquées dans ce processus sont les polyphénoloxydases (PPO) et les peroxydases (POD). Elles permettent la formation de produits finaux extrêmement réactifs, les o-benzo quinones qui se polymérisent pour former des pigments bruns, les mélanines, responsables du brunissement. Le chapitre 6 du premier volume détaille l'ensemble des mécanismes du brunissement. Lors de ces réactions, les composés phénoliques jouent un rôle primordial ainsi que la phénylalanine-ammonialyase (PAL) qui est une enzyme clé car elle est à la base de la synthèse des substrats phénoliques. Des études ont montré une forte corrélation entre l'activité de la PAL et l'intensité du brunissement de coupes de nervures centrales de laitues iceberg (Tomas-Barberan et Espin, 2001). Il est aujourd'hui admis que la PAL est induite par le stress de blessure et qu'elle catalyse la conversion de la L-phénylalanine en acide *trans*-cinnamique entraînant finalement le brunissement des produits (Saltveit, 1997 ; figure 119).

La mesure du brunissement enzymatique peut être réalisée par diverses méthodes. L'analyse sensorielle réalisée par un panel entraîné permet de donner des indications sur l'état global du produit en terme de qualité visuelle. Cependant, cette technique n'est pas utilisable en routine et souffre d'un manque de sensibilité et de reproductibilité. Des mesures instrumentales ont alors été proposées. Elles peuvent être réalisées sur les extraits liquides après broyage des tissus, centrifugation et élimination du culot. Les pigments, le contenu phénolique, les activités enzymatiques sont évalués par mesure d'absorbance, généralement entre 400 et 490 nm. La couleur des échantillons solides peut également être analysée par réflectrométrie et par colorimétrie. Ainsi, des méthodes d'analyse d'image ont été mises au point pour divers produits alimentaires. Les échantillons sont scannés ou analysés par image

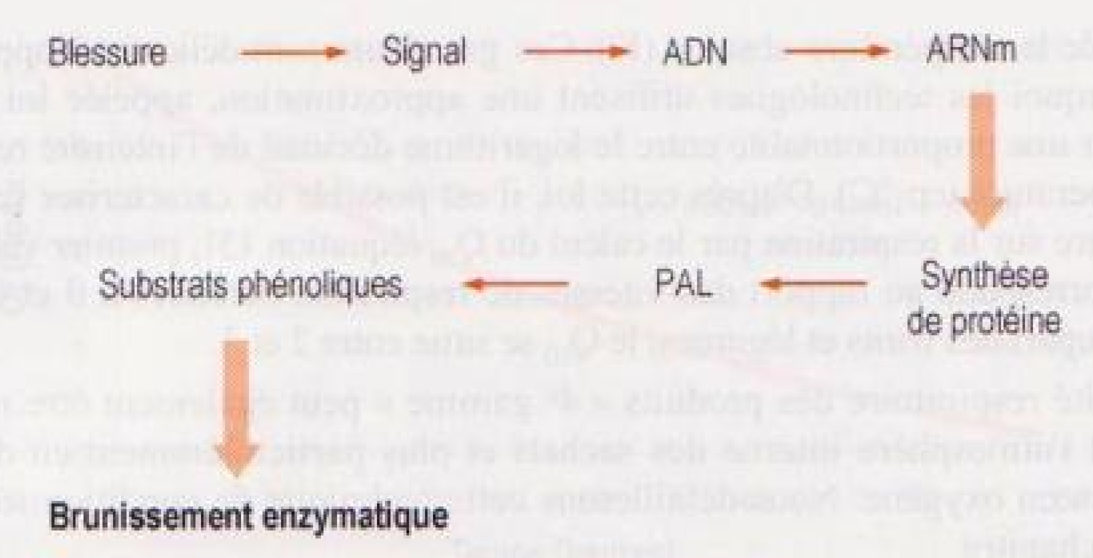


Figure 119 ■ Mécanisme de transcription du signal de blessure.

ou vidéo numériques et les données sont ensuite traitées avec un logiciel adéquat. Le système L*a*b* est le plus utilisé en alimentaire car il donne une information directement corrélée à la perception sensorielle sur la couleur du produit (cf. chapitre 13 du premier volume) : L* (de 0 à 100) représente la luminance, a* et b* (de – 128 à + 127) sont les paramètres chromatiques et décrivent la couleur respectivement du vert au rouge et du bleu au jaune. D'autres systèmes tels que RGB (*Red Green Blue*), CMYK (*Cyan Magenta Yellow blacK*) peuvent également être utilisés.

2.2. Prévention du brunissement enzymatique

De façon générale, pour maîtriser les phénomènes de brunissement, il faut minimiser les stress de blessure, qui favorisent également l'entrée et le développement de micro-organismes. Ainsi, les lames des couteaux et les disques des machines doivent être aussi affûtés que possible.

D'autre part, pour limiter l'oxydation des produits « 4e gamme », il faut éliminer le suc cellulaire des zones blessées en les lavant abondamment. La technique de découpe au jet d'eau décrite ultérieurement permet de réduire considérablement le processus de brunissement des produits du fait du lessivage automatique des cellules endommagées.

D'autres techniques de prévention reposent sur l'utilisation d'inhibiteurs chimiques. Ainsi, des composés réducteurs comme l'acide ascorbique, l'acide citrique ou les composés soufrés (sulfite, cystéine) sont utilisés en « 4e gamme » pour leur effet potentiellement inhibiteur de la PPO. L'acide ascorbique est plutôt utilisé lors de la fabrication des fruits « 4e gamme », alors que les sulfites sont autorisés à une teneur maximale de 50 ppm sur certains produits consommés cuits tels que les pommes de terre et les champignons de Paris. Récemment, divers auteurs ont inhibé le brunissement des coupes de nervures centrales de laitue iceberg en utilisant des inhibiteurs de la PAL.

Le conditionnement des produits « 4e gamme » sous atmosphère modifiée représente une méthode efficace pour réduire les réactions d'oxydation enzymatique. En ce qui concerne la laitue, la diminution des teneurs en oxygène (1 à 5 %) et l'augmentation des teneurs en dioxyde de carbone (10 à 15 %) à l'intérieur des sachets permettent de réduire significativement le phénomène de brunissement.

Enfin, l'utilisation de la *thermothérapie* représente aujourd'hui une solution potentielle pour prévenir les problèmes de brunissement. Initialement utilisée pour diminuer la charge microbienne des fruits et légumes, cette technique s'est montrée efficace pour lutter contre certains problèmes physiologiques des végétaux. Chez la laitue iceberg, par exemple, l'utilisation de brefs chocs thermiques (> 45 °C) a permis de réduire le brunissement des nervures centrales après découpe (Saltveit, 2000). Ce phénomène a été corrélé avec une inhibition de la synthèse de la PAL et l'hypothèse d'un détournement de synthèse de protéines lors du choc thermique, qui conduirait non plus à la synthèse de protéines de stress comme la PAL mais à la synthèse de protéines HSP (*heat shock protein*) spécifiques du choc thermique, a été proposée. Cette déviation de la synthèse de la PAL amoindrirait l'accumulation de substrats phénoliques et donc le brunissement des tissus (figure 120). Cependant, la *thermothérapie* est très difficile à appliquer en industrie car elle peut être à l'origine de brûlures plus ou moins importantes des tissus et son effet varie en fonction des variétés et du stade physiologique du produit.

VOIE du SHIKIMATE
tyrosine
NH_2
HOOC
phénylalanine
choc thermique
PAL
choc thermique
PAL
activité TAL
HOOC
acide cinnamique
C4H
acide caféique
OH
OH
HOOC
OH
HOOC
acide para-coumarique
esters caféiques

Figure 120 ■ Schéma du principe de fonctionnement de la thermothérapie sur le brunissement enzymatique des végétaux (Saltveit, 2000).

3. *Les opérations unitaires de fabrication des produits « 4e gamme » : principaux problèmes scientifiques et techniques*

La fabrication des produits « 4e gamme » comprend une succession d'étapes définies qui sont présentées figure 121 pour la salade « prête à l'emploi ».

La première règle à respecter dans l'atelier de fabrication est le principe de la « marche en avant » du produit. Cette règle permet notamment d'éviter tout croisement des produits propres avec les produits souillés ou les déchets (figure 122). Il faut noter que « marche en avant » ne signifie pas linéarité : des changements de

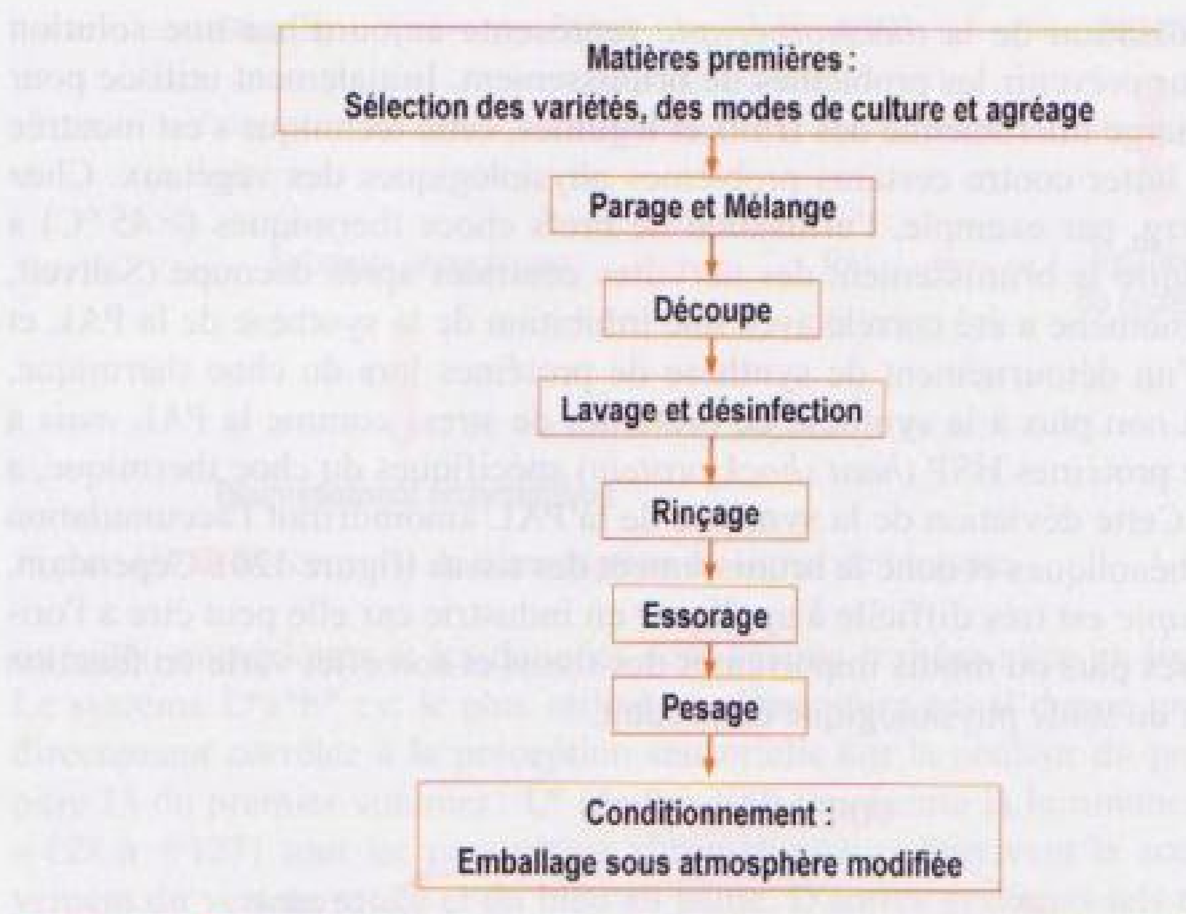


Figure 121 ■ Les opérations unitaires de fabrication de salades « 4ᵉ gamme ».

direction des chaînes sont possibles, voire nécessaires. Ce principe supprime simplement les points de rencontre.

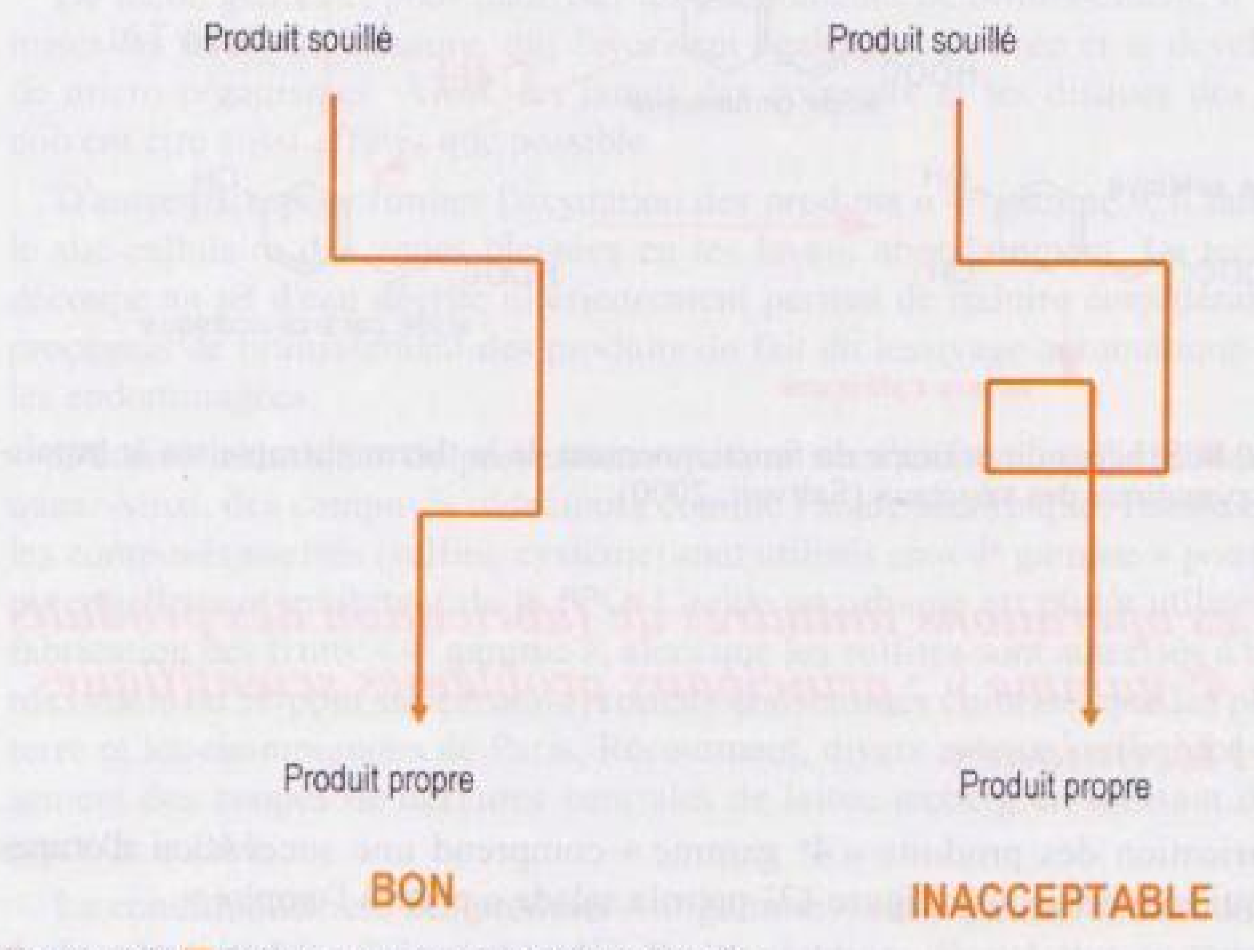


Figure 122 ■ Principe de la « marche en avant ».

En pratique, pour éviter les contaminations croisées, les différentes opérations unitaires sont réalisées dans des pièces séparées. De plus, le froid étant un élément

essentiel du maintien de la qualité des végétaux « prêts à l'emploi », la température dans les différentes pièces doit être contrôlée et en accord avec la réglementation (figure 123).

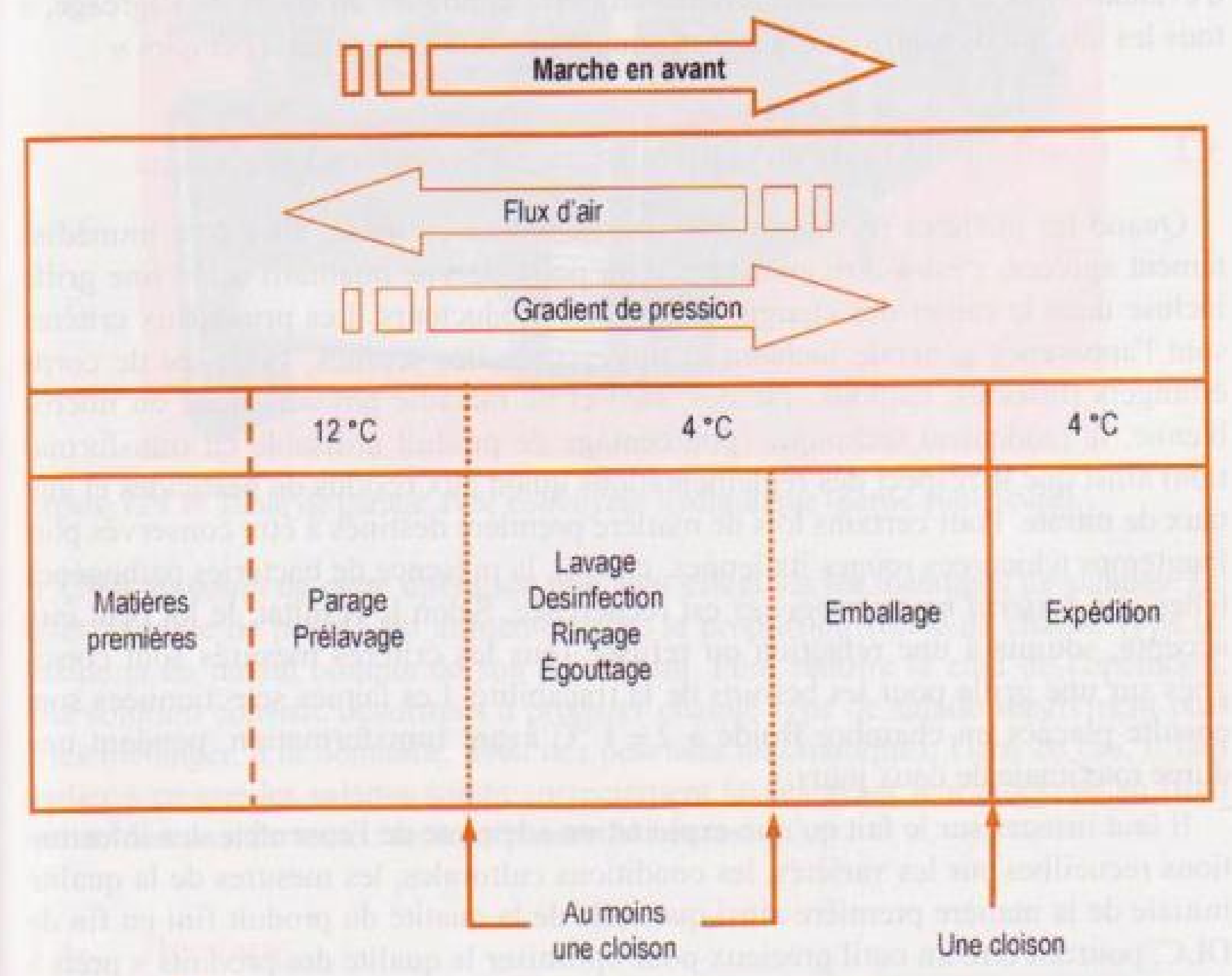


Figure 123 ■ Segmentation et gradient de température dans les unités de transformation.

3.1. Les matières premières : sélection des variétés et des modes de culture

Le choix de la matière première est un facteur essentiel qui détermine la qualité finale du produit. La sensibilité variétale et les conditions culturales jouent un rôle sur le comportement physiologique et donc sur la qualité finale des produits et influencent ce choix. Par exemple, le *brown stain*, caractérisé par l'apparition de taches rosâtres à brunes sur la nervure centrale des laitues de type iceberg ou plus généralisées sur le limbe des laitues beurre, est lié à la sensibilité variétale. Le brunissement enzymatique est lui étroitement corrélé aux conditions culturales.

Cependant, il n'existe pas encore de critères de sélection physiologiques validés pour l'obtention de variétés bien adaptées à la transformation « 4e gamme ». Les seuls critères de sélection des laitues beurre destinées à la transformation sont la résistance au mildiou (*Bremia lactucae*), la morphologie, c'est-à-dire principalement la capacité des feuilles à se séparer les unes des autres (délitement), le poids de manière à obtenir le meilleur rendement technique possible, ainsi que le comportement en culture suivant la saison. Actuellement, des recherches sont conduites en

France pour mettre au point des tests permettant la détection de matières premières sensibles au brunissement enzymatique ou aux désordres physiologiques après transformation et donc, pour rejeter les lots impropres à cette industrie. Ces tests d'évaluation de la matière première doivent être appliqués au cours de l'agréage, à tous les lots qui doivent subir la transformation en produits « prêt à l'emploi ».

3.2. Contrôle de la qualité de la matière première : l'agréage

Quand les matières premières sont réceptionnées en usine, elles sont immédiatement agréées, c'est-à-dire analysées d'un point de vue qualitatif selon une grille incluse dans le cahier des charges fourni aux producteurs. Les principaux critères sont l'apparence générale incluant la turgescence des feuilles, l'absence de corps étrangers (insectes, cailloux, racines, etc.) et de maladie physiologique ou microbienne, le rendement technique (pourcentage de produit utilisable en transformation) ainsi que le respect des réglementations quant aux résidus de pesticides et aux taux de nitrate. Pour certains lots de matière première destinés à être conservés plus longtemps (chicorées rouges italiennes, choux), la présence de bactéries pathogènes telles que *Listeria monocytogenes* est recherchée. Selon le résultat, le lot peut être accepté, soumis à une réfaction ou refusé. Tous les critères mesurés sont consignés sur une grille pour les besoins de la traçabilité. Les laitues sélectionnées sont ensuite placées en chambre froide à 2 ± 1 °C avant transformation, pendant une durée maximale de deux jours.

Il faut insister sur le fait qu'une exploitation adéquate de l'ensemble des informations recueillies sur les variétés, les conditions culturales, les mesures de la qualité initiale de la matière première ainsi que celle de la qualité du produit fini en fin de DLC, pourrait être un outil précieux pour optimiser la qualité des produits « prêts à l'emploi ».

3.3. Parage et mélange

La première opération de transformation est le parage qui permet d'éliminer les parties des végétaux non consommables. Ainsi, dans le cas de la salade, le pivot et les premières couronnes de feuilles extérieures très vertes sont retirés. Cette opération est généralement effectuée manuellement à l'aide d'un couteau en acier inoxydable et bien affûté. Pour les scaroles et les frisées, le parage peut être partiellement mécanisé. Lors de l'utilisation de machine de parage automatique, le produit est saisi à sa base par un mandrin. La rotation de ce dispositif permet l'écartement des feuilles par la force centrifuge et les parties extérieures sont éliminées par un disque rotatif. L'avantage est une réduction de moitié du coût de main-d'œuvre, mais ce dispositif ne peut traiter que des salades présentant des homologies au niveau de leur géométrie et de leur comportement mécanique.

Les feuilles restantes sont alors séparées sur des convoyeurs à tapis ou hydraulique (Varoquaux et Mazollier, 2002). La figure 124 présente une table de parage composée d'un convoyeur hydraulique pour transporter les végétaux parés (partie supérieure) et d'un convoyeur à tapis pour éliminer les déchets (partie inférieure).

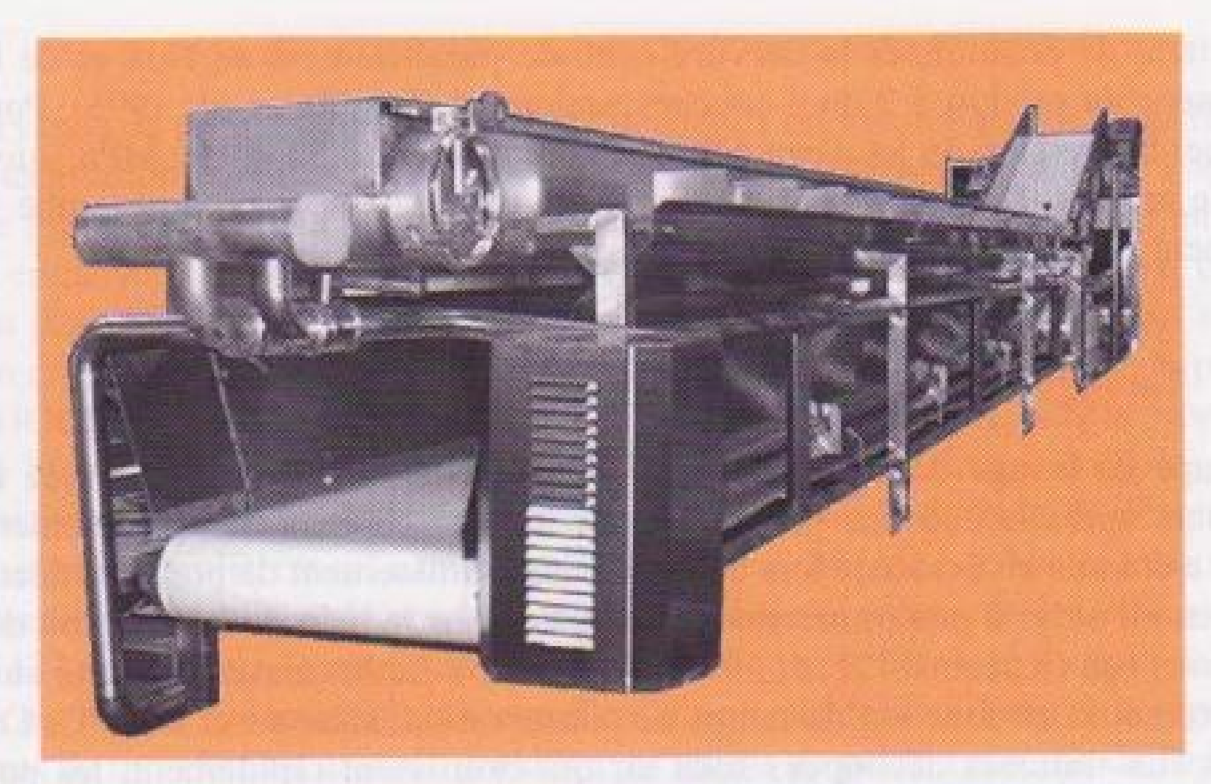


Figure 124 ■ Table de parage avec convoyeur hydraulique (partie supérieure).

C'est au cours de cette opération que sont effectués les mélanges de salades. En effet, la table de parage est alimentée avec la proportion finale de chaque type de salade et en tenant compte de son rendement. Pour réduire le coût de l'opération, une solution consiste désormais à préparer chaque type de salade séparément puis à les mélanger, à la demande, avec des peseuses automatiques. Dans ce cas, il faut veiller à ce que les salades soient correctement lavées avant leur stockage au froid qui ne doit pas, de toute façon, dépasser 24 heures.

3.4. Découpe

Cette opération donne sa forme définitive au produit. Par exemple, les feuilles de chicorées sont découpées en tronçons de 3 à 6 cm soit par des lames rotatives qui travaillent perpendiculairement au flux, soit par des disques installés parallèlement au flux, soit encore au jet d'eau. Les dispositifs de découpe au jet d'eau (figure 125)

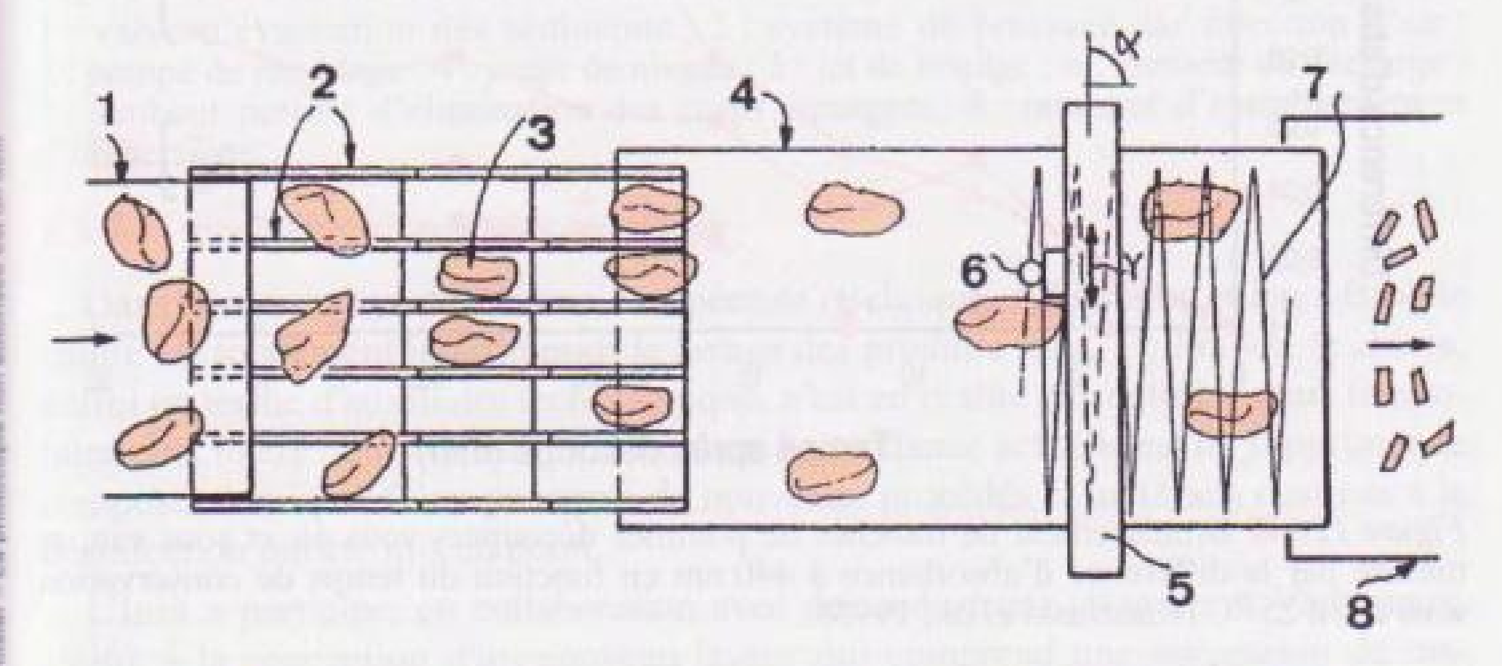


Figure 125 ■ Schéma d'un système de découpe au jet d'eau (Beguin *et al.*, 1995).

permettent de positionner la nervure centrale parallèlement au flux et de limiter l'épaisseur du produit à 2 ou 3 couches seulement (Beguin *et al.*, 1995). Pour être efficace, la pression du jet d'eau doit être comprise entre 50 et 100 MPa, suivant le type de produit. Dans la plupart des lignes de fabrication, le produit tombe immédiatement après découpe dans le bac de lavage.

3.5. Lavage et désinfection

L'étape de lavage doit, comme expliqué précédemment, être effectuée immédiatement après la découpe pour diminuer les phénomènes de brunissement. Cet intérêt a été mis en évidence lors de l'étude du brunissement de pommes découpées soit sous air suivi d'une immersion immédiate dans le bain de lavage, soit directement sous eau (Kuczinski *et al.*, 1993 ; figure 126). Le brunissement a été suivi par réflectrométrie en fonction du temps de conservation, sous air et à 25 °C. Contrairement aux tranches découpées sous air qui brunissent rapidement, les pommes découpées sous eau restent intactes plus longtemps. Ce phénomène peut s'expliquer par le lessivage rapide des sucs cellulaires des tissus blessés lorsque ceux-ci sont découpés sous eau. Ainsi, les enzymes et les substrats du brunissement enzymatique sont immédiatement éliminés alors que sous air, les exsudats sont partiellement absorbés par capillarité dans les tissus internes et induisent le brunissement. Pour les salades « 4[e] gamme », des tables de parage hydrauliques (figure 124) qui permettent le lavage immédiat des coupes peuvent être utilisées pour limiter l'altération de la couleur et pour favoriser le délitement des laitues beurre dont les feuilles ne sont pas découpées par la suite.

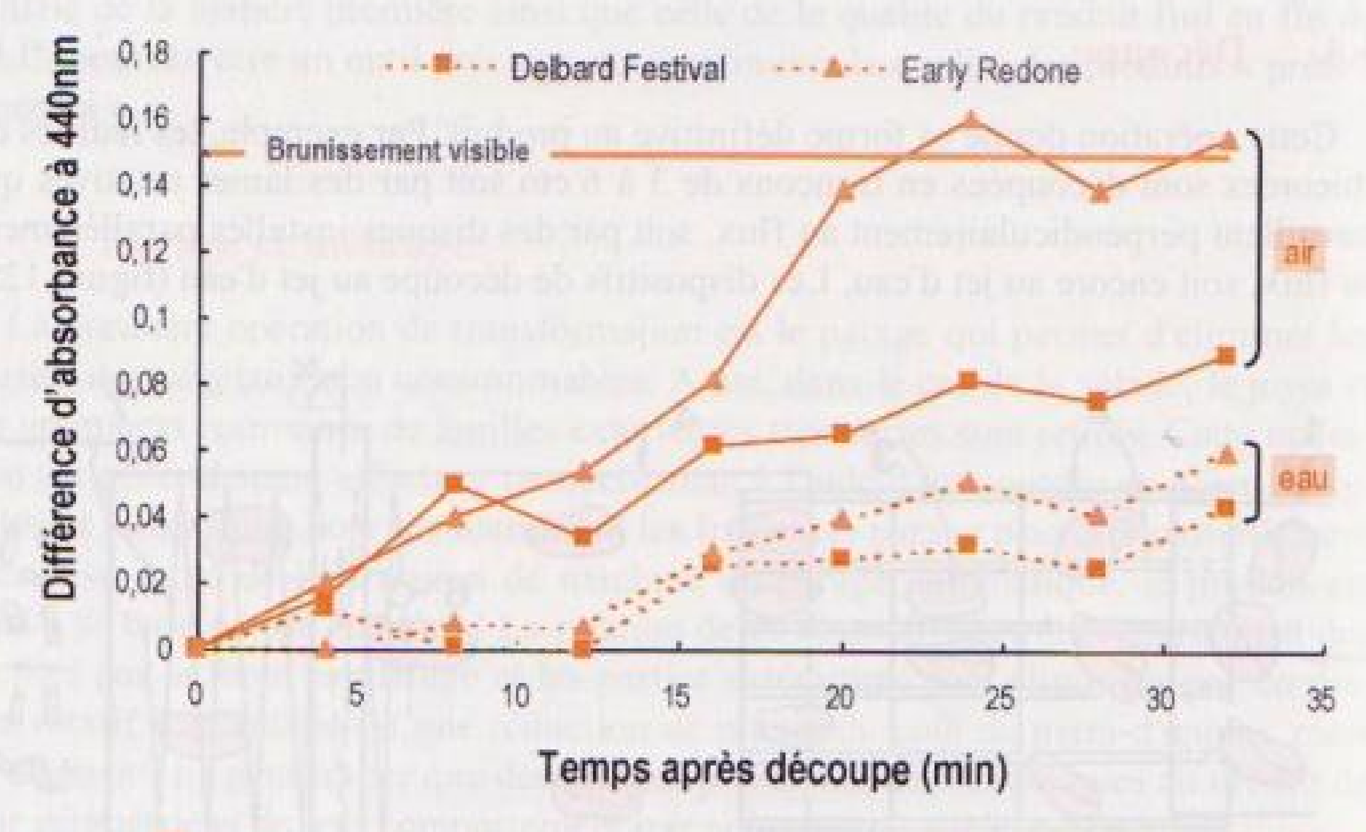


Figure 126 ■ Brunissement de tranches de pommes découpées sous air et sous eau, et mesuré par la différence d'absorbance à 440 nm en fonction du temps de conservation sous air, à 25 °C (Kuczinski *et al.*, 1993).

3.5.1. Description des procédés traditionnels de lavage et désinfection

En France, la désinfection des produits découpés est assurée par de l'eau chlorée. La concentration en chlore actif, fixée à 120 ppm en 1988, a été réduite à 80 ppm dans le guide de 1992. Le temps de contact est généralement limité à 1 minute. Le chlore employé peut être de l'hypochlorite de sodium ou du chlore gazeux. Ce dernier est plus délicat à mettre en œuvre mais il est plus efficace. Le pouvoir antimicrobien du chlore en solution aqueuse dépend du pH, car il est dû à l'acide hypochloreux (HOCl) et non à sa forme ionisée (ClO^-). Plus le pH décroît, plus la proportion d'acide hypochloreux augmente, et plus le traitement est efficace. Dans les unités de transformation, la concentration en chlore actif et le pH du bain de désinfection sont mesurés régulièrement car les sucs cellulaires libérés par les végétaux suite aux blessures neutralisent le pouvoir oxydant du bain et réduisent son efficacité. La figure 127 présente un exemple de laveur automatique : le brassage du bain de désinfection est réalisé par injection tangentielle d'air ou par des jets d'eau et la régulation du temps de transfert est assurée par des axes munis de pales. En sortie de l'appareil, un rouleau-cage permet l'élimination des insectes et petits débris végétaux. Les feuilles désinfectées sont ensuite rincées à l'eau potable contenant moins de 0,5 ppm de chlore actif, conformément à la réglementation française en vigueur.

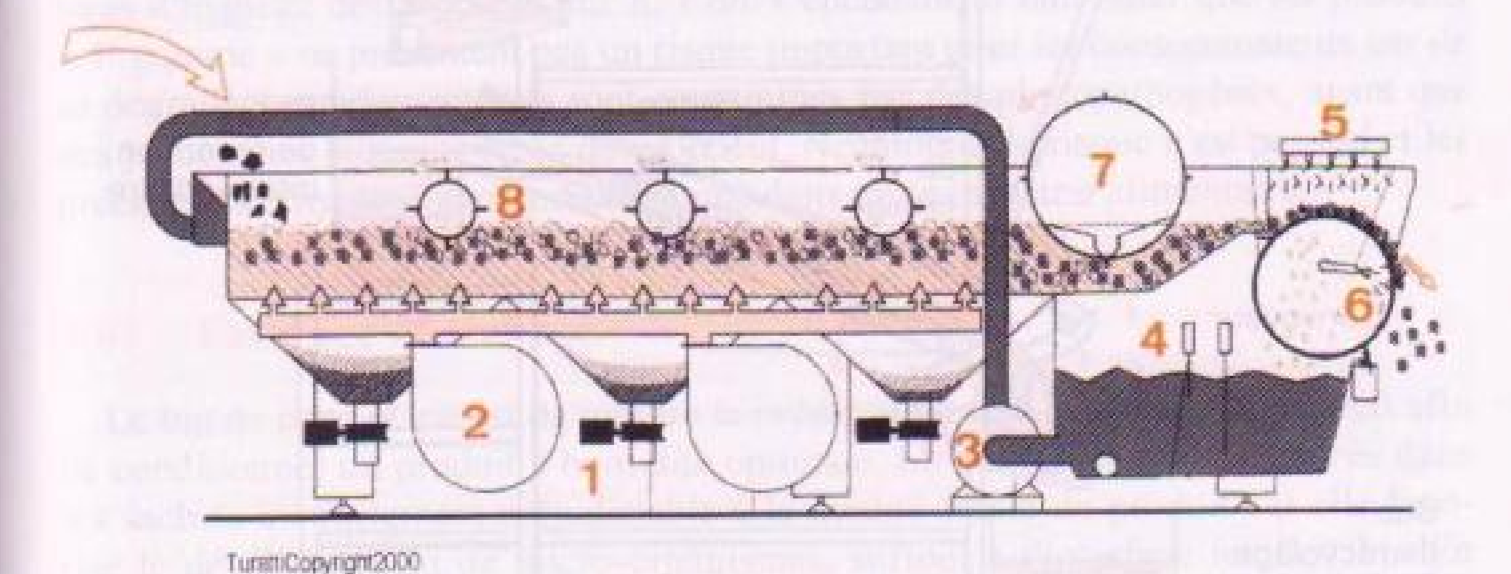


Figure 127 ■ Schéma du laveur traditionnel.
1 : valve d'évacuation des sédiments ; 2 : système de brassage par injection d'air ; 3 : pompe de recyclage ; 4 : jauge de niveau ; 5 : jet de rinçage ; 6 : tambour de décharge ; 7 : tambour perforé d'élimination des corps étrangers ; 8 : tambour d'entraînement et d'immersion.

3.5.2. Procédés alternatifs au chlore

Dans certains pays de l'Union européenne (Belgique, Allemagne et Pays-Bas), le chlore est totalement interdit pour le lavage des produits frais. En France, le chlore, défini en terme d'auxiliaire technologique, n'est en réalité pas autorisé mais temporairement toléré pour cet usage particulier. La tendance actuelle est de supprimer ce composé chimique. C'est pourquoi de nouveaux procédés et matériels destinés à la désinfection ont été mis au point.

L'Inra a participé, en collaboration avec des industriels (Beguin et Varoquaux, 1996), à la conception d'un nouveau laveur qui comprend une succession de cascades et de flux laminaires (figure 128). Dans ce procédé, la salade est d'abord

élevée vers une trémie d'alimentation remplie d'une solution contenant 5 à 8 ppm de chlore actif. La concentration en chlore est régulée avec une électrode spécifique et la solution est filtrée avant son recyclage partiel. Le produit submergé fait son chemin par gravité dans le courant d'eau. Le fond de la première section du canal comprend des bombements qui transforment le flux en une succession de cascades et de flux laminaires. À la fin de cette première section, le produit est séparé de l'eau chlorée par un passage sur un convoyeur perforé. L'eau est ensuite redirigée vers le bac tampon après filtration et réajustement de la concentration en chlore. La salade tombe dans un bac rempli d'eau potable. La base du tapis de convoyage de la section de rinçage est également munie de bosses. Après égouttage, le produit est ensuite transporté vers le système de séchage.

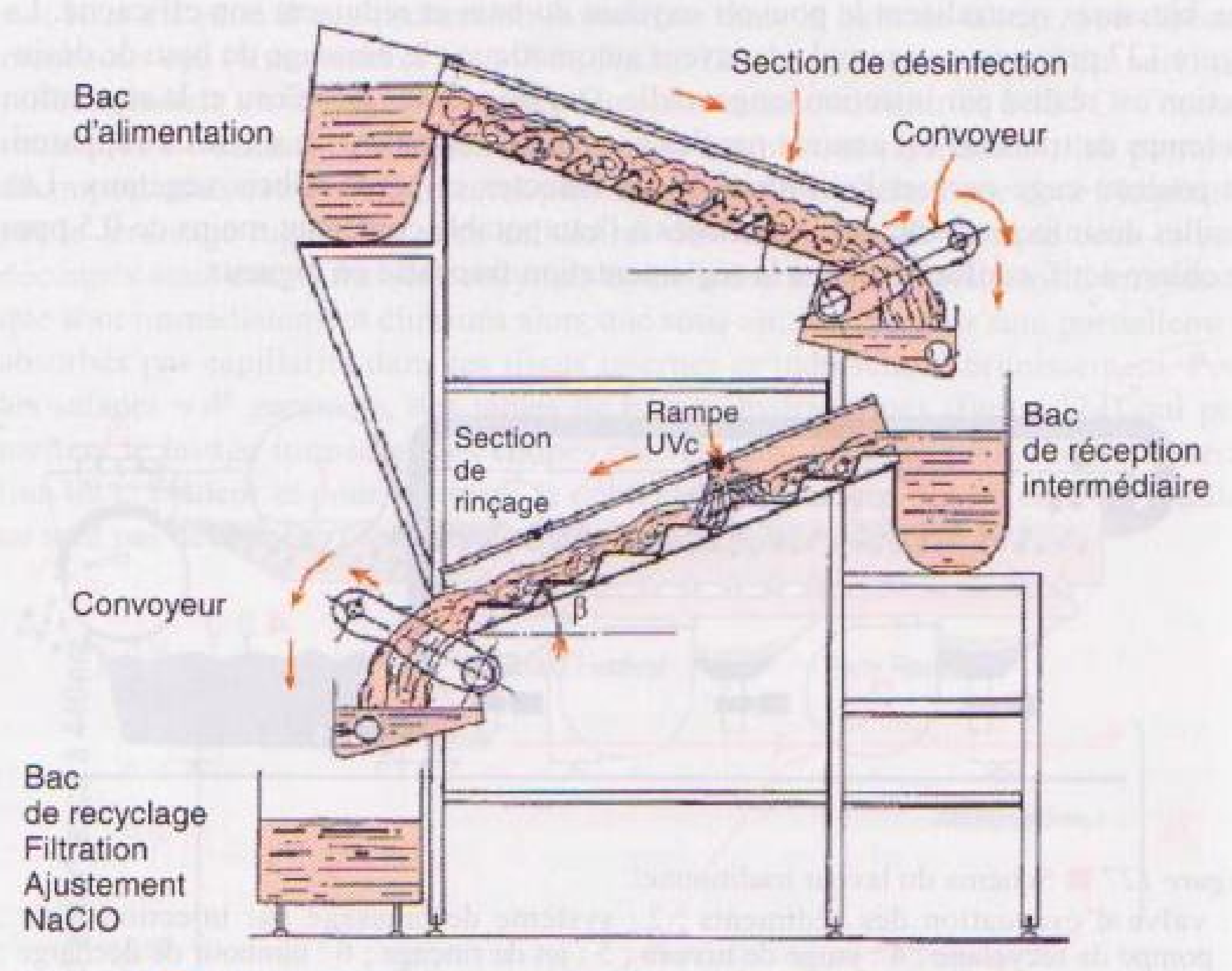


Figure 128 ■ Schéma du laveur à cascades (Beguin et Varoquaux 1996).

Des substituts au chlore ont été testés : l'ozone est un excellent désinfectant mais son utilisation est limitée car ce gaz est très toxique et volatil ; l'acide peracétique a aussi été utilisé, notamment sur le raisin mais avec un effet désinfectant moindre que le chlore. L'avantage de ce composé est qu'il se dégrade en sous-produits inoffensifs ne présentant pas de toxicité à long terme. L'ion hypothiocyanate ($OSCN^-$) présent dans la salive et les larmes est un autre exemple de désinfectant potentiel. Cet antimicrobien naturel est produit par une enzyme, la lactoperoxydase, en présence d'eau oxygénée. L'efficacité de l'$OSCN^-$ a été démontrée pour la destruction de nombreux micro-organismes pathogènes comme *Yersinia enterocolitica* et *Listeria monocytogenes.* Ce système ne produit pas de composés néoformés et est très simple d'utilisation.

3.5.3. *La lutte contre le développement microbien*

Les surfaces extérieures des fruits et légumes sont naturellement chargées en micro-organismes (levures, moisissures et bactéries) dont la nature et la proportion sont influencées par les caractéristiques physico-chimiques des produits (Nguyen-The et Carlin, 1994). Lors des traitements technologiques de transformation, comme le pelage et la découpe, une contamination des surfaces découpées peut provenir de la surface des produits ou de l'environnement. Il est donc impératif de maintenir les machines et les locaux dans un état de propreté rigoureuse. De plus, il faut réduire la contamination des matières premières et des produits transformés afin de garantir la durée de vie désirée. Actuellement, le lavage au chlore à 80 ppm provoque une réduction de 90 à 99 % de la flore initiale des salades et se montre plus efficace sur les levures et moisissures que sur la flore aérobie mésophile totale. Le respect de la chaîne du froid permet de ralentir la multiplication des micro-organismes. L'utilisation d'atmosphères modifiées influe également sur le développement de la flore microbienne : par exemple, les moisissures sont inhibées par des faibles teneurs en oxygène et des teneurs en dioxyde de carbone supérieures à 10 %. Actuellement, la réglementation européenne (CE 2073/2005) impose la recherche des germes pathogènes *Listeria monocytogenes* et *Salmonella*, et des critères d'hygiène des procédés sur *E. Coli*. Cependant, il faut noter que les produits « 4e gamme » ne présentent pas un risque important pour les consommateurs car ils se dégradent rapidement s'ils sont contaminés par des phytopathogènes, avant que des pathogènes humains ne se développent. Néanmoins le risque n'est pas nul et les précautions d'hygiène s'imposent comme dans toute industrie alimentaire.

3.6. Essorage et séchage

Le but de cette étape est de réduire la présence d'eau à la surface du végétal afin de conditionner un produit à humidité optimale. En effet, l'eau libre en excès dans les sachets est fortement préjudiciable à la qualité finale du produit car elle favorise le développement de micro-organismes, surtout à l'interface feuille/film. En outre, la présence d'eau dans les sachets de salades diminue l'acceptabilité pour le consommateur. La technique de l'égouttage doit donc être optimisée de telle sorte que la salade ne contienne pas plus de 1 à 3 % d'eau résiduelle par rapport à la matière première.

Deux méthodes de séchage sont actuellement utilisées : la centrifugation et le passage dans un tunnel d'air chaud. Les centrifugeuses les plus couramment utilisées sont semi-automatiques ou automatiques. La vitesse de rotation est faible durant l'alimentation, augmente dès que le chargement est complet et ralentit à nouveau quand la centrifugation est terminée et ce, pendant que le double fond du panier de la centrifugeuse est poussé vers le haut pour décharger progressivement la salade essorée dans une goulotte de convoyage vers la peseuse. Il convient d'adapter soigneusement la force de centrifugation au type de salade manipulée car une centrifugation trop énergique entraîne des meurtrissures sur les feuilles. Ainsi, les salades très fragiles comme la laitue beurre ou les jeunes pousses demandent un séchage très modéré.

Les tunnels de séchage à l'air ont l'avantage de ne pas provoquer de stress mécanique sur le produit. Il s'agit d'une technique plus récente mise au point en Italie et qui est maintenant couramment utilisée dans plusieurs unités de transformation en Europe et aux États-Unis. Le tunnel de séchage comporte trois sections : la première, appelée section de préséchage est destinée à retirer mécaniquement les gouttes d'eau à l'aide de ventilateurs puissants ; la seconde section (tronçon chaud) est composée d'une cascade de tables vibrantes qui conduisent le produit au travers d'un flux d'air tiède. Enfin, dans la troisième section, les feuilles sont refroidies entre 1 et 4 °C à l'air frais. Cependant, le matériel employé est de grande dimension et de ce fait ne convient pas à toutes les installations.

3.7. Pesage

Le pesage des produits est généralement automatisé. La peseuse associative utilisée à cet effet n'est pas spécifique à l'industrie de la « 4e gamme ». Elle est constituée d'un cône d'alimentation vibrant qui alimente de manière régulière des godets de prépesée disposés à la périphérie de l'appareil. Un capteur de niveau commande l'ouverture et le remplissage des godets, qui sont pesés et dont les contenus sont associés selon la meilleure combinaison possible en fonction du poids final voulu. La salade est alors libérée par gravité.

3.8. Ensachage

La dernière étape du procédé de fabrication des produits « 4e gamme » est l'ensachage. Cette étape est généralement synchronisée à l'opération de pesage pour obtenir des sachets de poids précis. L'ensachage est réalisé dans une salle de conditionnement qui doit être propre, réfrigérée à 1-2 °C et séparée de la salle précédente de lavage ainsi que de la salle suivante de stockage.

L'emballage assure plusieurs fonctions physiologiques qui sont de :
– limiter la dessiccation des produits ;
– réduire la respiration sans asphyxier les tissus ;
– ralentir les phénomènes de maturation et de sénescence ;
– freiner les mécanismes d'altérations physiologique et microbiologique.

Pour la fabrication de salades « 4e gamme », des ensacheuses verticales ou horizontales sont utilisées. Dans les ensacheuses verticales, la première partie de la machine est composée d'un « col-de-cygne », tube cylindrique autour duquel est positionné le film d'emballage. Une soudure longitudinale puis une soudure transversale permettent de former des sachets, le remplissage s'effectuant dans le tube cylindrique par ouverture d'une trappe associée à la peseuse associative. Enfin, des gaz peuvent ou non être injectés dans les sachets avant qu'ils ne soient fermés par soudure.

Des ensacheuses horizontales (*flow pack*) sont également utilisées pour obtenir des produits présentés en barquettes. Dans ce cas, les produits sont présentés à plat sur un transporteur et filmés ou operculés au cours de leur avancement sur la machine.

4. Emballage sous atmosphère modifiée

Généralement, la diminution des teneurs en oxygène et l'augmentation des teneurs en dioxyde de carbone améliorent la conservation des fruits et légumes frais (Kader *et al.*, 1989). Cependant, la diminution excessive de l'oxygène peut conduire à l'anoxie et induire des réactions de fermentations peu favorables au maintien de la qualité des produits. Il est donc nécessaire de déterminer au préalable la composition atmosphérique optimale de conservation des produits.

Ces teneurs sont estimées par la méthode des atmosphères contrôlées. Les végétaux sont placés dans des enceintes hermétiques reliées à un dispositif de régulation qui maintient la composition atmosphérique constante. La qualité des produits est ensuite analysée au cours du temps. Des atmosphères optimales de conservation sont ainsi disponibles dans la littérature pour bon nombre de produits. Cependant, cette évaluation reste difficile car l'atmosphère idéale dépend de la nature des végétaux, de leur état de maturité, des conditions du milieu extérieur et du type d'altération que l'on veut inhiber.

Dans les sachets de produits « 4e gamme », la composition de l'atmosphère résulte du bilan des flux gazeux dus à l'activité respiratoire des végétaux et à la diffusion des gaz à travers le film (figure 129).

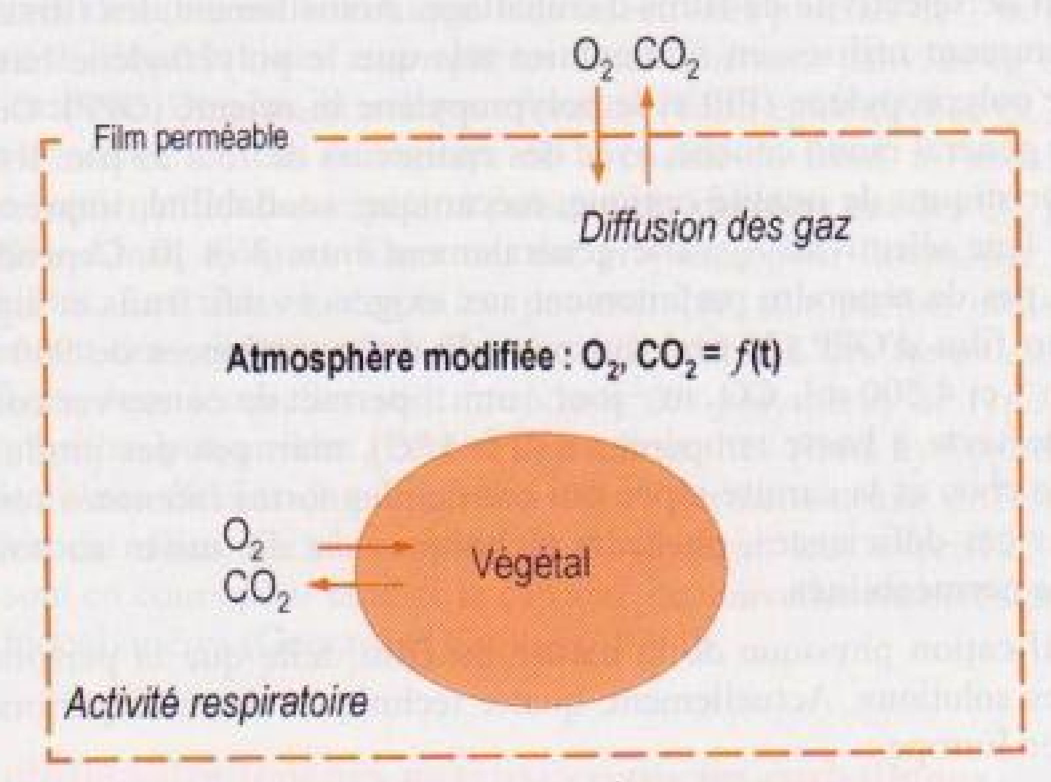


Figure 129 ■ Principe de l'emballage sous atmosphère modifiée.

4.1. Diffusion des gaz à travers les films d'emballage

4.1.1. Mesure et modélisation de la diffusion des gaz à travers les films

La connaissance de la perméabilité (P_e, généralement exprimée en $mol{\cdot}m^{-1}{\cdot}s^{-1}{\cdot}Pa^{-1}$) ou de la perméance (rapport de la perméabilité sur l'épaisseur *e* du film ; $mol{\cdot}m^{-2}{\cdot}s^{-1}{\cdot}Pa^{-1}$ ou $mL{\cdot}m^{-2}{\cdot}jour^{-1}{\cdot}atm^{-1}$) des films d'emballage est essentielle pour raisonner le choix d'un film (non microporeux ou microperforé) permettant d'obtenir à l'équilibre le mélange gazeux souhaité. Pour cela, des cellules à perméabilité

permettent d'évaluer la diffusion de gaz à travers un disque de film de surface et d'épaisseur connue, sachant que la diffusion de gaz à travers un film dense et non poreux suit la première loi de Fick (cf. chapitre 9, premier volume) :

$$\frac{dn_x}{dt} = A \cdot \frac{P_e}{e} \cdot \Delta P \qquad [20]$$

où $\frac{dn_x}{dt}$ est le flux molaire du gaz X à travers le film ($mol \cdot s^{-1}$), P_e le coefficient de perméabilité gazeuse du film ($mol \cdot m^{-1} \cdot s^{-1} \cdot Pa^{-1}$), A la surface développée du film (m^2) et e son épaisseur (m), et ΔP la différence de pression partielle gazeuse de part et d'autre du film (Pa).

Les valeurs de perméabilité obtenues sont fonction de la structure du polymère, mais également des conditions environnantes, température et humidité. Les films sont également caractérisés par leur sélectivité $S_e (= P_{eCO_2}/P_{eO_2})$.

4.1.2. Les différents types de films d'emballage utilisés

Pour créer des atmosphères d'équilibre variées répondant aux exigences diverses des fruits et légumes, il est nécessaire de disposer d'une large gamme de perméabilité et de sélectivité de films d'emballage. Actuellement, les films plastiques sont couramment utilisés en alimentaire tels que le polyéthylène basse densité (PEBD), le polypropylène (PP) et le polypropylène bi-orienté (OPP). Ces polymères sont en général mono couche, avec des épaisseurs de 15 à 35 µm. Ils possèdent des caractéristiques de qualité optique, mécanique, soudabilité, impression et faible coût et leur sélectivité S_e varie généralement entre 3 et 10. Cependant, ils ne permettent pas de répondre parfaitement aux exigences des fruits et légumes. Par exemple, un film d'OPP (35 µm) qui possède des perméances de 900 mL $O_2 \cdot m^{-2} \cdot jour^{-1} \cdot atm^{-1}$ et 4 500 mL $CO_2 \cdot m^{-2} \cdot jour^{-1} \cdot atm^{-1}$ permet de conserver correctement de la salade verte à basse température (0 à 4 °C), mais pas des produits comme l'épinard, le chou et la carotte râpée qui ont de plus fortes intensités respiratoires. Pour pallier ces déficiences, plusieurs techniques ont été mises au point afin de modifier les perméabilités.

La modification physique de la nature du film, telle que la perforation, peut apporter des solutions. Actuellement, quatre techniques de microperforations sont proposées en Europe :

- la décharge électrostatique qui a été la première méthode utilisée mais qui ne donne pas des résultats très reproductibles ;
- le laser qui est la meilleure technique mais la plus chère ;
- l'aiguille froide qui déchire le film, ce qui rend l'estimation de la perméabilité difficile ;
- l'aiguille chaude qui réalise des perforations un peu trop béantes, contraires aux recommandations qui préconisent un diamètre entre 20 et 100 µm pour éviter une contamination microbienne (figure 130).

En fonction de la densité et de la dimension des perforations, les perméabilités des films sont modifiées et les sélectivités sont réduites. Ainsi, la sélectivité des

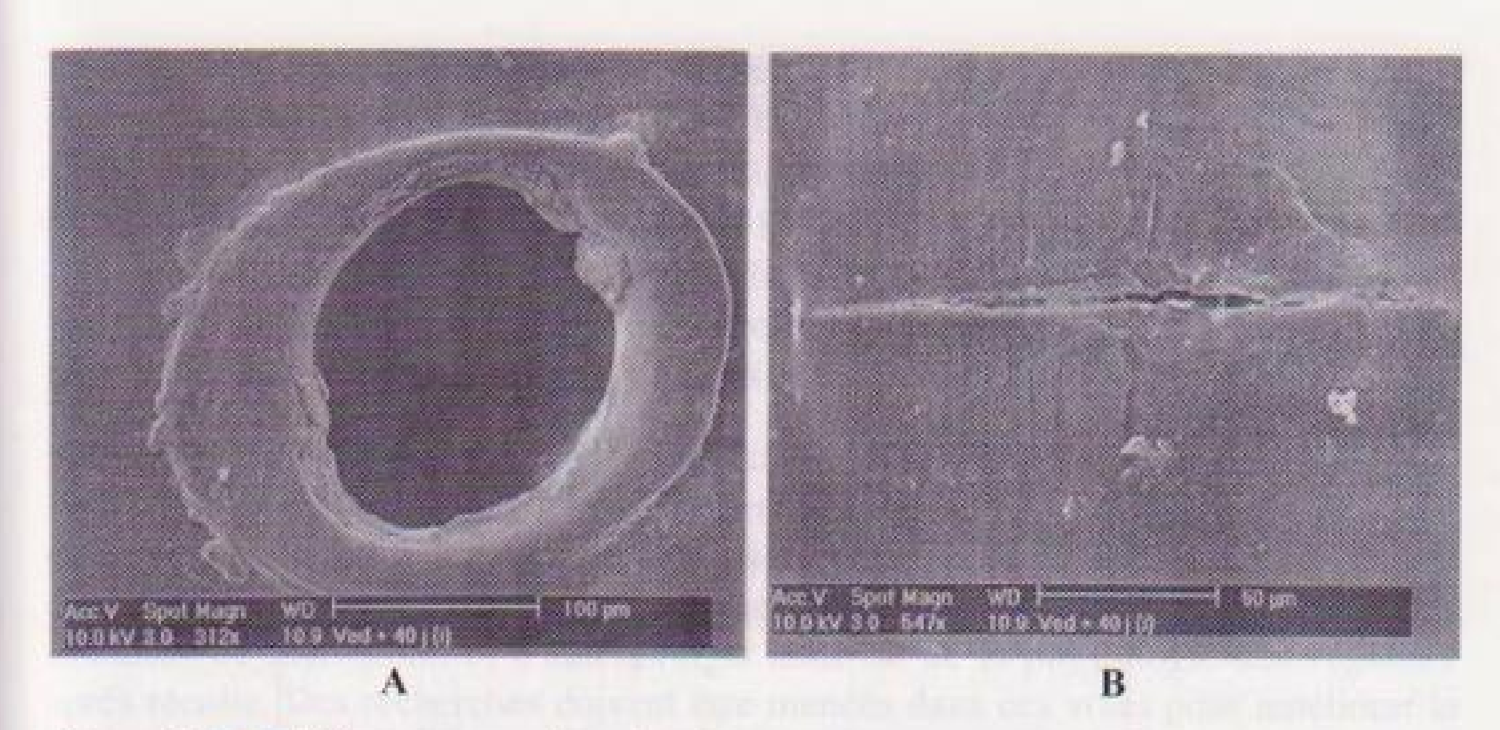


Figure 130 ■ Différents types de perforation.
A : par laser ; B : par aiguille froide (photo Inra).

films microperforés est voisine de 0,85 car elle répond à la loi de Graham selon laquelle la vitesse de diffusion d'un gaz dans l'air est inversement proportionnelle à la racine carrée de sa masse volumique. Ces sélectivités proches de 1 ne permettent pas d'obtenir à l'équilibre des atmosphères simultanément pauvres en oxygène et dioxyde de carbone. De plus, la microperforation réduit également le Q_{10} des films, ce qui peut conduire, en cas de rupture de la chaîne du froid, à l'anoxie et à des réactions de fermentation des végétaux puisque ces derniers ont des Q_{10} plus élevés (Kader, 1986). Ainsi, d'autres films ont été proposés pour diversifier la gamme de perméabilités. Les films hydrophiles, par exemple, sont parfois utilisés pour le conditionnement des végétaux. Ces films correspondent à des formulations à base de polyoléfines dans lesquelles sont introduits des polymères de type polyester-polyéther, polyéther-polyamides (Pebax®) ou autres. Les films hydrophiles présentent des sélectivités élevées (supérieures à 10) et permettent une diffusion importante de la vapeur d'eau. De plus, quand ils s'hydratent, leur sélectivité varie. Des recherches sont en cours pour étudier la capacité de nouvelles matières protéiques à former des biopolymères (Gontard et Guilbert, 1994).

4.2. Évolution des teneurs gazeuses dans les emballages sous atmosphère modifiée

Selon le principe des emballages sous atmosphère modifiée présenté figure 129, les teneurs gazeuses à l'intérieur des sachets sont fonction de la diffusion des gaz à travers le film et de l'activité respiratoire des végétaux. Après une phase transitoire où l'oxygène diminue et le dioxyde de carbone augmente, une phase stationnaire s'établit où les échanges diffusifs à travers le film compensent exactement la production de dioxyde de carbone et la consommation d'oxygène par le végétal (figure 131).

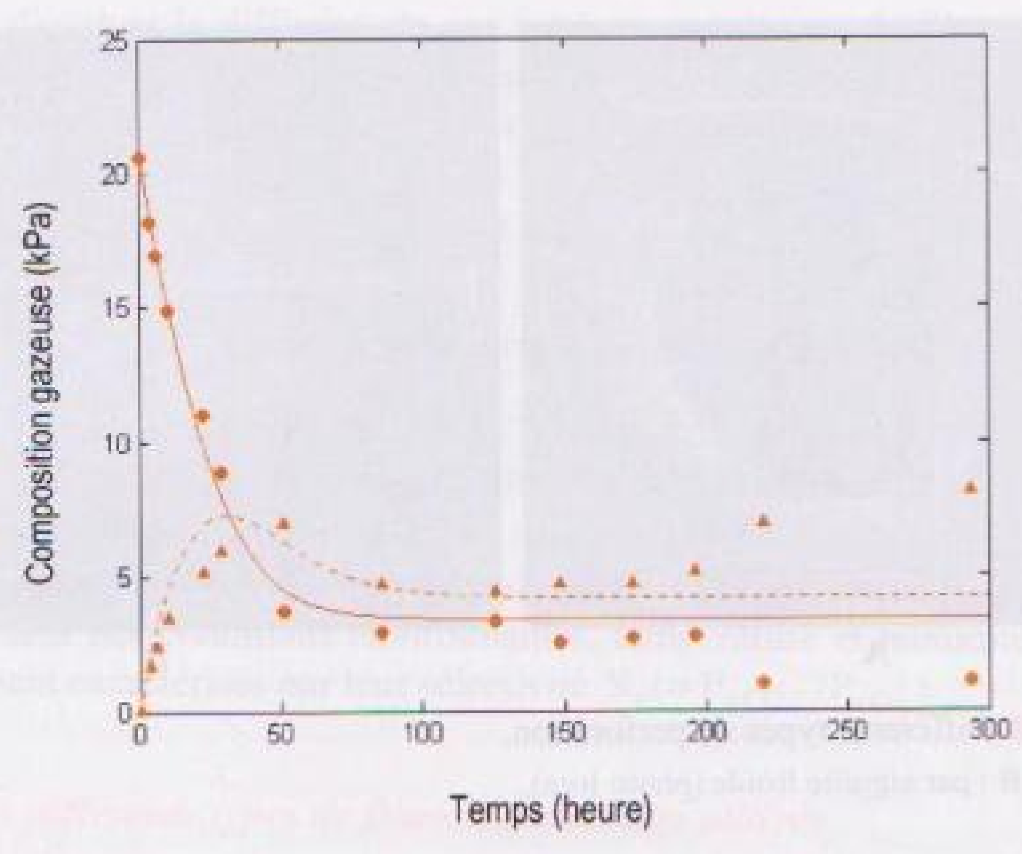


Figure 131 ■ Évolution des teneurs en oxygène (●) et en dioxyde de carbone (▲) dans un emballage de PEBD contenant 500 g d'endives (20 °C) (Charles *et al.*, 2005).

La composition de l'atmosphère à l'équilibre peut être aisément déterminée car elle répond, sous réserve que le quotient respiratoire soit égal à 1 (c'est-à-dire $IR_{O_2} = IR_{CO_2}$), à la loi suivante (Ozdemir *et al.*, 2005) :

$$[O_2]_{eq} + S_e \cdot [CO_2]_{eq} = 21 \qquad [21]$$

avec $[O_2]_{eq}$ et $[CO_2]_{eq}$ les concentrations des gaz à l'équilibre (kPa) et S_e la sélectivité du film (P_{eCO_2}/P_{eO_2}). La co nnaissance de la sélectivité d'un film permet donc de définir rapidement les teneurs gazeuses à l'équilibre et à l'intérieur des sachets. Cependant, il est aussi important de connaître l'évolution des teneurs gazeuses : en effet, l'effet positif d'une atmosphère à l'état stationnaire peut être perdu si le produit est exposé à des teneurs gazeuses non convenables durant la phase transitoire. C'est le cas des champignons de Paris qui présentent des problèmes d'altération de la couleur s'ils sont soumis à des pics de dioxyde de carbone pendant la phase transitoire. Dans le cas des laitues, les produits sont tellement sensibles à l'air ambiant que les teneurs en oxygène doivent être diminuées rapidement lors du conditionnement. Pour cela, on injecte dans les sachets avant soudure soit de l'azote pur, soit un mélange O_2/CO_2 pour que l'atmosphère interne contienne 1-3 kPa d'O_2 et 8-14 kPa de CO_2. Ces techniques de modification active de l'atmosphère protègent les tissus blessés d'un brunissement trop précoce. Dans ce cas, il faut noter que les teneurs gazeuses à l'équilibre ne sont pas modifiées et le film doit donc être choisi de façon à obtenir l'atmosphère d'équilibre optimale de conservation du produit.

L'évolution des teneurs gazeuses dans les sachets peut être décrite par des modèles basés sur des bilans de matière. L'équation suivante présente l'exemple du bilan en oxygène :

$$\frac{dn_{O_2}}{dt} = \frac{P_{eO_2} \cdot A}{e}(P_{O_{2ext}} - P_{O_{2int}}) - IR_{O_2} \cdot m \qquad [22]$$

où P_{eO_2} est le coefficient de perméabilité du film à l'oxygène ($mmol{\cdot}m^{-1}{\cdot}s^{-1}{\cdot}Pa^{-1}$), A et *e* respectivement la surface (m^2) et l'épaisseur (m) du film d'emballage, IR_{O_2} l'intensité respiratoire O_2 (fonction des pressions partielles d'O_2 et CO_2, en $mmol{\cdot}kg^{-1}{\cdot}s^{-1}$) et m la masse de végétal (kg).

Les simulations obtenues permettent de définir les perméabilités optimales des films en fonction des paramètres respiratoires du végétal et des conditions souhaitées de conditionnement (teneurs gazeuses et température).

Les produits « 4e gamme », en alliant fraîcheur, facilité d'utilisation et caractéristiques nutritionnelles, sont particulièrement adaptés aux nouveaux modes de vie et de consommation. Le développement du secteur des produits « 4e gamme » dépend d'avancées technologiques et scientifiques permettant d'optimiser les opérations unitaires de fabrication et d'améliorer la maîtrise de la physiologie des végétaux après récolte. Des recherches doivent être menées dans ces voies pour améliorer la durée de vie des produits.

Il faudrait tout d'abord sélectionner des variétés adaptées à cette industrie. Puisqu'il est possible d'identifier des groupes de lignées sensibles ou résistantes à certaines conditions de conservation telles que des teneurs relativement élevées en dioxyde de carbone, les obtenteurs pourraient se pencher sur les caractéristiques génomiques qui les différencient. De plus, des études systématiques pourraient être réalisées sur la qualité de la salade transformée en fonction des conditions précises de récolte. La qualité (brunissement, maladie physiologique due au dioxyde de carbone) de la salade en sachets pourrait ainsi être évaluée en fonction des différentes conditions de récolte de la matière première.

Au niveau technologique, le stress de blessure reste un point critique du procédé de fabrication. L'opération de lavage doit également être optimisée notamment en étudiant les différentes alternatives au chlore. Pour obtenir des atmosphères de conservation optimales, les recherches doivent être orientées sur les polymères plastiques, les biopolymères et les techniques de modification des perméabilités des films d'emballage. De plus, le comportement des films en fonction des conditions de l'environnement doit être ajusté à celui des végétaux pour éviter, par exemple, les problèmes d'anoxie qui peuvent survenir lors de la rupture de la chaîne du froid. La possibilité de modifier activement l'atmosphère peut aussi améliorer la qualité des produits en réduisant de façon significative la durée de la phase transitoire. Actuellement des balayages gazeux sont réalisés pour les salades « 4e gamme » mais d'autres techniques pourraient être proposées comme l'utilisation de sachets absorbeurs de gaz. Enfin, des traitements de conservation peuvent être associés à la conservation sous atmosphère modifiée. La thermothérapie représente une solution potentielle, à condition que les barèmes de traitement soient correctement définis pour inhiber le brunissement et simultanément éviter les nécroses dues aux brûlures.

Par ailleurs, les mécanismes conduisant à la dégradation des végétaux ne sont pas réellement explicités. Lors du brunissement, par exemple, des enzymes ont été identifiées mais l'effet des teneurs gazeuses sur leur activité n'est pas élucidé. Le mécanisme permettant d'expliquer l'effet du dioxyde de carbone sur la conservation reste encore vague : effet *via* le pH, effet direct sur les enzymes, etc. Il est donc nécessaire d'améliorer les connaissances en physiologie végétale post-récolte ainsi

que la compréhension des effets des traitements de conservation au niveau cellulaire et au niveau de l'expression des gènes.

L'essor des produits « 4[e] gamme » nécessite donc des recherches multidisciplinaires en technologie, physiologie, microbiologie et génétique. Ces recherches doivent être menées rapidement pour répondre aux besoins d'un marché qui se développe considérablement avec l'apparition de produits innovants (préparations à cuire, mélanges variés de salades, fruits seuls ou en mélange, etc.).

Références bibliographiques
de la deuxième partie

Abecassis J, Chaurand M (1997). Appréciation de la valeur d'utilisation du blé dur en semoulerie et en pastification. *In :* Godon B, Loisel W, *Guide d'Analyses dans les Industries des Céréales*. Tec & Doc Lavoisier, Paris.

Allosio-Ouarnier N, Quemener B, Bertrand D, Boivin P (1999). Application of high performance anion exchange chromatography to the study of carbohydrate changes in barley during malting. *J Inst Brew,* **106** : 45-52.

Aubert C (1985). *Les aliments fermentés traditionnels*. Terre Vivante, Paris, 252 p.

Baker JC, Maze MD (1941). The origin of the gas cell in bread dough. *Cereal Chem,* **18** : 19.

Bamforth CW (1985). The foaming properties of beer. *J Inst Brew,* **91** : 370-383.

Beguin G, Clays C, Delavet C (1995). Procédé et dispositif de découpe de légumes et de fruits, *Brevet français* n° 95 04674.

Beguin G, Varoquaux P (1996). Procédé de lavage et de désinfection de feuilles de légumes tels que des salades, *Brevet français* n° 96 08644.

Beveridge T (2002). Opalescent and cloudy fruit juices : formation and particle stability. *Crit Rev Food Sci Nutr*, **42** : 317-337.

Briggs DE (2002). Malt modification. A century of evolving views. *J Inst Brew,* **108** : 395-405.

Brummell DA (2006). Cell wall disassembly in ripening fruit. *Funct Plant Biol*, **33** : 103-119.

Chandra GS, Proudlove MO, Baxter ED (1999). The structure of barley endosperm. An important determinant of malt modification. *J Sci Food Agric*, **79** : 37-46.

Chambroy Y (1989). Physiologie et température des produits frais découpés. *Revue Générale du froid* 3, (Colloque AFF, Avignon, 8-10 novembre), 78-92.

Charles F, Sanchez J, Gontard N (2005). Modeling of active modified atmosphere packaging of endives exposed to several postharvest temperatures. *J Food Sci*, **8** : 443-449.

Crandall PG, Matthews RF, Baker RA (1983). Citrus beverage clouding aspects : review and status. *Food Technol,* **37** : 106-109.

De Ell JR, Khanizadeh S, Saad F, Ferree DC (2001). Factors affecting apple fruit firmness : a review. *J Am Pomological Soc,* **55** : 8-27.

Dinsdale MG, Lloyd D, McIntyre P, Jarvis B (1999). Yeast vitality during cider fermentation : assessment by energy metabolism. *Yeast,* **15** : 285-293.

Dixon J, Hewett EW (2000). Factors affecting apple aroma/flavour volatile concentration : a review. *New Zealand J Crop Hortic Sci,* **28** : 155-173.

Drapron R, Genot C (1979). Les lipides des céréales. *Ind Alim Agric*, 1257-1273.

Endo A (1965). Studies on pectolytic enzymes of molds Part XIII. Clarification of apple juice by the joint action of purified pectolytic enzymes. *Agric Biol Chem,* **29** : 129-136.

Evans DE, Sheehan MC, Stewart DC (1999). The impact of malt derived proteins on beer foam quality. Part II : The influence of malt foam-positive proteins and non -starch polysaccharides on beer foam quality. *J Inst Brew,* **105** : 171-177.

Feillet P (2000). *Le grain de blé, composition et utilisation*. Inra éditions, Paris, 308 p.

Fillaudeau L, Blanpain-Avet P (1999). Applications en brasserie de la microfiltration tangentielle. *Tec Ing,* **F3260** : 1-13.

Fleurent E (1911). *Le pain de froment*. Éd Gauthier-Villars, Paris, 222 p.

Fong CH, Hasegawa S, Herman Z, Ou P (1989). Limonoid glucosides in commercial citrus juices. *J Food Sci,* **54** : 1505-1506.

Giovannoni J (2001). Molecular biology of fruit maturation and ripening. *An Rev Plant Phys Plant Mol Biol,* **52** : 725-749.

Gontard N, Guilbert S (1994). Bio-packaging : technology and properties of edible and/or biodegradable material of agricultural origin. *In* : Mathlouthi M (ed.), *Food Packaging and Preservation*. Blackie Academic & Professional, Glasgow, 159-181.

Grosjean F, Barrier-Guillot B (1996). Les polysaccharides non amylacés des céréales. *Industries des céréales*, **98** : 13-33.

Gu LW, Kelm MA, Hammerstone JF, Beecher G, Holden J, Haytowitz D, Gebhardt S, Prior RL (2004). Concentrations of proanthocyanidins in common foods and estimations of normal consumption. *J Nut*, **134** : 613-617.

Ha MA, Vietor RJ, Jardine GD, Apperley DC, Jarvis MC (2005). Conformation and mobility of the arabinan and galactan side-chains of pectin. *Phytochem*, **66** : 1817-1824.

Henry RJ (1988). The carbohydrates of barley grains. A review. *J Inst Brew*, **94** : 71-78.

Heredia A, Guillen R, Jimenez A, Fernandez-Bolanos J (1993). Review : plant cell wall structure. *Rev Esp Cienc Tecnol Alim*, **33** : 113-131.

Hulme AC, Rhodes MJC (1971). Pome fruits. *In : The biochemistry of fruits and their products* ; ACH eds, 333-369.

Jackson G, Wainwright T (1978). Melanoidins and beer foam. *J Am Soc Brew Chem*, **36** : 192-195.

Jayani RS, Saxena S, Gupta R (2005). Microbial pectinolytic enzymes : a review. *Proc Biochem*, **40** : 2931-2944.

Johnston JW, Hewett EW, Hertog ML (2002). Postharvest softening of apple (Malus domestica) fruit : a review. *New Zealand J Crop Hortic Sci*, **30** : 145-160.

Kader AA (1986). Biochemical and physiological basis for effects of controlled and modified atmospheres on fruits and vegetables. *Food Technol*, **40** : 99-104.

Kader AA, Zagory D, Kerbel EL (1989). Modified atmosphere packaging of fruits and vegetables. *Crit Rev Food Sci Nutr*, **28** (1) : 1-30.

Kallay T (2002). Genetic determination of maturation processes in climacteric fruits - a review. *Acta Alim*, **31** : 169-177.

Kashyap DR, Vohra PK, Chopra S, Tewari R (2001). Applications of pectinases in the commercial sector : a review. *Biores Technol*, **77** : 215-227.

Kuczinski A, Varoquaux P, Souty M (1993). Reflectance spectra of "ready-to-use" apple products for determination of enzymatic browning. *Int Agrophysics*, **7** : 85-92.

Larousse Gastronomique (1984). Éd. R Courtine, Larousse, Paris, 1 142 p.

Le Quéré JM, Husson F, Renard CM, Primault J (2006). French cider characterization by sensory, technological and chemical evaluations. *Lebensm Wiss Technol*, **39** : 1033-1044.

Lea AGH, Drilleau JF (2003). Cidermaking. *In :* Lea AGH et Piggott JR (eds.), *Fermented beverage production* (2nd edition) ; Kluwer Academic/Plenum Publishers, 59-87.

Lusk LT, Goldstein H, Ryder D (1995). Independent role of beer proteins, melanoidins and polysaccharides in foam formation. *J Am Soc Brew Chem*, **53** : 93-103.

Maillard LC (1912). Action des acides aminés sur les sucres ; formation de mélanoïdines par voie métabolique. *Comptes rendus hebdomadaires de l'Académie des sciences de Paris*, **154** : 743-752.

Mangas JJ, Moreno J, Picinelli A, Blanco D (1998). Characterization of cider apple fruits according to their degree of ripening. A chemometric approach. *J Agric Food Chem*, **46** : 4174-4178.

Maurisio (1932). *Histoire de l'alimentation végétale depuis la préhistoire jusqu'à nos jours.* Traduit par Gindon F. Payot, Paris, 663 p.

Nguyen-The C, Carlin F (1994). The microbiology of minimally processed fresh fruits and vegetables. *Crit. Rev Food Sci Nutr*, **34** (4) : 371-401.

Ohata K, Kamada K (1987). Studies on foam stability of beer. *Proceedings of the European Brewery Convention Congress*, Madrid.

O'Neill MA, Ishii T, Albersheim P, Darvill AG (2004). Rhamnogalacturonan II : structure and function of a borate cross-linked cell wall pectic polysaccharide. *An Rev Plant Biol*, **55** : 109-139.

Ozdemir I, Monnet F, Gouble B (2005). Simple determination of the O_2 and CO_2 permeances of microperforated pouches for modified atmosphere packaging of respiring foods. *Postharvest Biol Technol*, **36** : 209-213.

Peppelenbos HW, VantLeven J (1996). Evaluation of four types of inhibition for modelling the influence of carbon dioxide on oxygen consumption of fruits and vegetables. *Postharvest Biol Technol*, **7** (1-2) : 27-40.

Petrich-Murray H, Ducroo P (1996). Les pentosanes en panification. *Industries des Céréales*, **97** : 13-17.

Planchot V, Colonna P, Saulnier L (1997). Dosage des glucides et des amylases. *In* : Godon B et Loisel W, *Guide Pratique d'Analyses dans les Industries des Céréales*. Tec & Doc Lavoisier, Paris, 345 p.

Renard C, Théry S (1998). Détermination des méthodes physico-chimiques pour prédire la qualité biscuitière et boulangères des blés français. *Industries des céréales*, **109** : 31-36.

Renaudin C (1951). La fabrication industrielle des pâtes alimentaires. Dunod Paris, 405 p.

Roussel P, Chiron H (2002). *Les Pains Français ; évolution, qualité, production*. Mac-Erti, Vesoul, 433 p.

Rouau X (1996). Les hémicellulases en panification. *Industries des céréales*, **96** : 13-19.

Saltveit ME (1997). Physical and physiological changes in minimally processed fruits and vegetables. *In* : Tomas-Barberan FA (ed.), *Phytochemistry of fruits and vegetables*. Oxford University Press, 205-220.

Saltveit ME (2000). Wound induced changes in phenolic metabolism and tissue browning are altered by heat shock. *Postharvest Biol Technol*, **21** : (1), 61-69.

Segel E., Glenister PR, Koeppl KG (1967). Beer foam. *Technical Quaterly Master Brewers Association of the Americas*, **4** : 104-113.

Serventi S, Sabban F (2001). *Les pâtes, histoire d'une culture universelle*. Actes Sud, Arles, 495 p.

Siebert KJ (2006). Haze formation in beverages. *Lebensm Wiss Technol*, **39** : 987-994.

Singh SV, Jain RK, Gupta A, Dhatt AS (2003). Debittering of citrus juices - A review. *J Food Sci Technol*, **40** : 247-253.

Somerville C, Bauer S, Brininstool G, Facette M, Hamann T, Milne JL, Osborne E, Paredez A, Persson S, Raab T, Vorwerk S, Youngs H (2004). Toward a systems approach to understanding plant cell walls. *Science*, **306** : 2206-2210.

Spanos GA, Wrolstad RE (1992). Phenolics of apple, pear and white grape juices and their changes with processing and storage - A review. *J Agric Food Chem*, **40** : 1478-1487.

Tomas-Barberan FA, Espin JC (2001). Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables. *J Sci Food Agric*, **81** (9) : 853-876.

Varoquaux P, Gouble B, Barron C, Yildiz F (1999). Respiratory parameters and sugar catabolism of mushroom (*Agaricus bisporus Lange*). *Postharvest Biol Technol*, **16** (1) : 51-61.

Varoquaux P, Mazollier J (2002). Overview of the European fresh-cut produce industry. *In* : Lamikanra O (ed.), *Fresh-cut fruits and vegetables. Science, Technology, and Market*. CRC Press, Boca Raton, 21-43.

Willm C (1990). Farines d'antan, farines d'aujourd'hui ; comparaison des farines de meules et des farines de cylindres. *Industries des Céréales*, **66** : 7-16.

Yamasaki M, Kato A, Chu SY, Arima K (1967). Pectic enzymes in the clarification of apple juice. Part II- The mechanism of clarification. *Agric Biol Chem*, **31** : 552-560.

Yoruk R, Marshall MR (2003). Physicochemical properties and function of plant polyphenol oxidase : a review. *J Food Biochem*, **27** : 361-422.

Troisième partie

Propriétés et technologies des ingrédients

8

Propriétés fonctionnelles des ingrédients

L'aliment est un système hétérogène tant au niveau de sa composition que de sa structure ; comme nous l'avons décrit précédemment, il peut être constitué de plusieurs phases présentant des différences de masse volumique et de potentiel chimique, d'où une instabilité thermodynamique. Le défi que doivent relever les industriels de l'agroalimentaire est de stabiliser un tel système durant la période de commercialisation et de lui permettre de subir, sans altération qualitative, des contraintes mécaniques (transport) et thermiques, avec ou sans changement d'état (réfrigération, congélation, réchauffage). Cette problématique ne concerne pas uniquement les aliments issus des technologies d'assemblage mais également les aliments de technologie traditionnelle dont la consommation doit pouvoir être différée dans le temps et l'espace. La connaissance des phénomènes physico-chimiques impliqués dans la construction des aliments et de leur évolution dans le temps permet aujourd'hui de définir la fonctionnalité des ingrédients à mettre en œuvre pour maîtriser leur qualité et leur stabilité ; ils peuvent contribuer à l'élaboration de la texture au travers de leurs propriétés épaississantes ou gélifiantes, à la dispersion d'air ou de matière grasse (mousse, émulsions) et à la stabilité des systèmes multiphasiques. Les propriétés fonctionnelles des ingrédients étant l'expression de leurs caractéristiques physico-chimiques, les différentes fonctionnalités peuvent être déclinées sur la base d'interactions moléculaires (interactions entre constituants et entre les constituants et l'eau) en solution ou aux interfaces ; ces interactions sont dépendantes des structures moléculaires ou supramoléculaires dans le cas des macromolécules protéiques et polysaccharidiques et de l'environnement ionique (pH, force ionique, nature des ions).

1. *Interactions avec l'eau : propriétés d'hydratation et pouvoir épaississant*

1.1. Nature des interactions

Les interactions entre l'eau et les constituants s'établissent au niveau des groupements ionisables capables de se solvater, tels que les groupements acides (-CO_2^-,

-O-PO_3^{2-}, -O-SO_3^-) et groupements aminés (-NH_3^+, -NRH_2^+) présents dans les protéines et polysaccharides, ou au niveau des groupements polaires non chargés (-OH, -COOH, -$CONH_2$, -NH_2, -SH) susceptibles de former des liaisons hydrogènes avec l'eau. Les groupements apolaires aliphatiques ou aromatiques (-$(CH_2)_n$-, -C_6H_5), de par leur caractère hydrophobe, peuvent contribuer à structurer l'eau qui se trouve dans leur environnement proche. La capacité des constituants à s'hydrater dépend fortement des caractéristiques physico-chimiques du solvant, notamment du pH, de la force ionique, de la nature des ions, de la constante diélectrique et de la température ; ces facteurs affectent en effet le niveau d'ionisation des fonctions acides et basiques car ils conditionnent leur pK apparent ou pH de demi-ionisation. Dans le cas des constituants amphotères (acides aminés, peptides, protéines), le niveau et le type d'ionisation évoluent sur toute la gamme de pH ; la charge globale s'annule au pH iso-ionique (pH_i), elle est positive au-dessous du pH_i et négative au-dessus. L'hydratation et la solubilité des molécules amphotères telles que les protéines sont en général faibles au pH_i. L'hydratation peut dépendre également de la structure des macromolécules de nature protéique et polysaccharidique ; la structure secondaire des protéines (feuillets β , hélice α) et l'organisation cristalline ou semi-cristalline des polysaccharides impliquent des liaisons hydrogènes entre les groupements amides des liaisons peptidiques (-CONH-) et les groupements hydroxyles (-OH) des motifs glucidiques, ce qui limite les sites d'hydratation ; la déstructuration de ces macromolécules par rupture de ces liaisons hydrogènes peut libérer des sites polaires qui deviennent ainsi accessibles à l'eau (gélatinisation des macromolécules par traitement thermique). La structure tertiaire des protéines est fortement conditionnée par la présence des groupements hydrophobes et par les caractéristiques du solvant (température, constante diélectrique, pH et force ionique). Dans leur structure native, les groupements apolaires associés par interactions de type Van der Waals sont en général localisés au sein des structures alors que les groupements polaires sont exposés au solvant ce qui facilite leur hydratation ; la dénaturation par traitement thermique ou par modification de la constante diélectrique peut se traduire par un démasquage des sites hydrophobes et une réduction du niveau d'hydratation et de la solubilité.

1.2. Influence des constituants hydrophiles sur la disponibilité et mobilité de l'eau

L'eau de solvatation des espèces ioniques de nature organique ou minérale et l'eau d'hydratation des groupements polaires non ioniques par liaison hydrogène sont plus ou moins fortement liées et présentent en conséquence des propriétés solvantes réduites ; ces constituants hydrophiles sont des dépresseurs d'a_W, qui est un élément important de la stabilité biologique des aliments. Les propriétés de fixation d'eau peuvent être caractérisées par les isothermes de sorption tels que décrits dans le premier volume (chapitre 1) ; les sucres et sels sont les dépresseurs les plus couramment utilisés.

Une autre propriété de l'eau immobilisée est son caractère non congelable ; la réduction de l'eau congelable a pour conséquences de réduire le coût énergétique de la congélation et diminuer le temps de congélation et de décongélation ; la présence

de constituants hydrophiles dans un aliment a également pour effet d'augmenter la température de transition vitreuse (T_g), ce qui permet de limiter la cristallisation de l'eau au cours de la congélation et de limiter le phénomène de vitrification des produits congelés (formation de cristaux de glace) lorsque la valeur de T_g est supérieure à celle de la température de stockage.

1.3. Influence de l'hydratation sur la solubilisation, la structure et la mobilité des macromolécules

La solubilité des macromolécules de nature protéique et glucidique est étroitement liée à leur capacité d'hydratation qui dépend de la balance hydrophile/hydrophobe, de leur structure et des conditions physico-chimiques du solvant. Nous avons dit précédemment que des modifications structurales induites par exemple par des traitements thermiques pouvaient favoriser l'hydratation des macromolécules ; parallèlement, l'hydratation peut modifier l'équilibre des interactions intra- et intermoléculaires rendant les chaînes polymériques plus flexibles et mobiles, ce qui est déterminant dans l'expression des fonctionnalités aux interfaces.

La plupart des ingrédients sont commercialisés sous forme anhydre ; l'aptitude à la réhydratation est un critère de qualité essentiel pour leur mise en œuvre et pour que puisse s'exprimer leur fonctionnalité ; la vitesse de réhydratation (cf. chapitre 1, § 3.3.3.) dépend à la fois des caractéristiques physiques de la poudre et de sa composition. La pénétration de l'eau est d'autant plus rapide que la surface de contact avec le milieu dispersant est grande et que donc le diamètre des particules est petit et que leur porosité et capillarité sont élevées. La migration de l'eau au sein de la particule dépend fortement de l'hygroscopicité de ses constituants, et est d'autant plus facilitée que la poudre contient des constituants très avides d'eau tels que des sels et sucres ; dans le cas d'un ingrédient macromoléculaire, il y a toujours risque de former à la surface du grain de poudre une couche visqueuse par hydratation des molécules de surface qui limite alors la mobilité de l'eau et ralentit son transfert au cœur du grain. La formulation de l'ingrédient avant séchage doit être raisonnée sur la base de son aptitude à la déshydratation et réhydratation et de sa sensibilité aux traitements thermiques associés au phénomène de concentration pour limiter une altération de ses propriétés fonctionnelles.

1.4. Influence de l'hydratation des constituants sur les propriétés rhéologiques du milieu

L'hydratation des macromolécules réduit la quantité d'eau solvante, d'où il résulte une concentration des solutés de nature organique et minérale dans la phase solvante résiduelle ce qui peut induire une augmentation de la viscosité ; les modifications conformationnelles des macromolécules consécutives à leur hydratation peuvent se traduire par des augmentations de volumes hydrodynamiques ou des déplissements qui contribuent à augmenter la viscosité et les propriétés viscoélastiques. Lorsque les macromolécules sont de nature amphotère (protéine), la viscosité peut être contrôlée par le pH, la force ionique et la nature des contre ions qui conditionnent les attractions et répulsions électrostatiques.

2. *Interactions intermoléculaires : propriétés texturantes*

2.1. Agrégation/gélification par déstabilisation des macromolécules ou éléments particulaires

La stabilité des macromolécules à caractère ionique en solution ou à l'état colloïdal est très dépendante de l'équilibre entre forces attractives (Van der Waals) et répulsives (électrostatiques, stériques) représentées figure 132. Les répulsions électrostatiques dépendent de la charge des particules ou macromolécules et de la longueur de Debye qui caractérise la couche des contre-ions de surface ; ces propriétés physiques sont déterminées non seulement par la nature des groupements ionisables des macromolécules, mais aussi par les caractéristiques physico-chimiques de la phase solvante (pH, force ionique). Les répulsions stériques sont en général conditionnées par les interactions entre les chaînes des macromolécules de surface et le solvant.

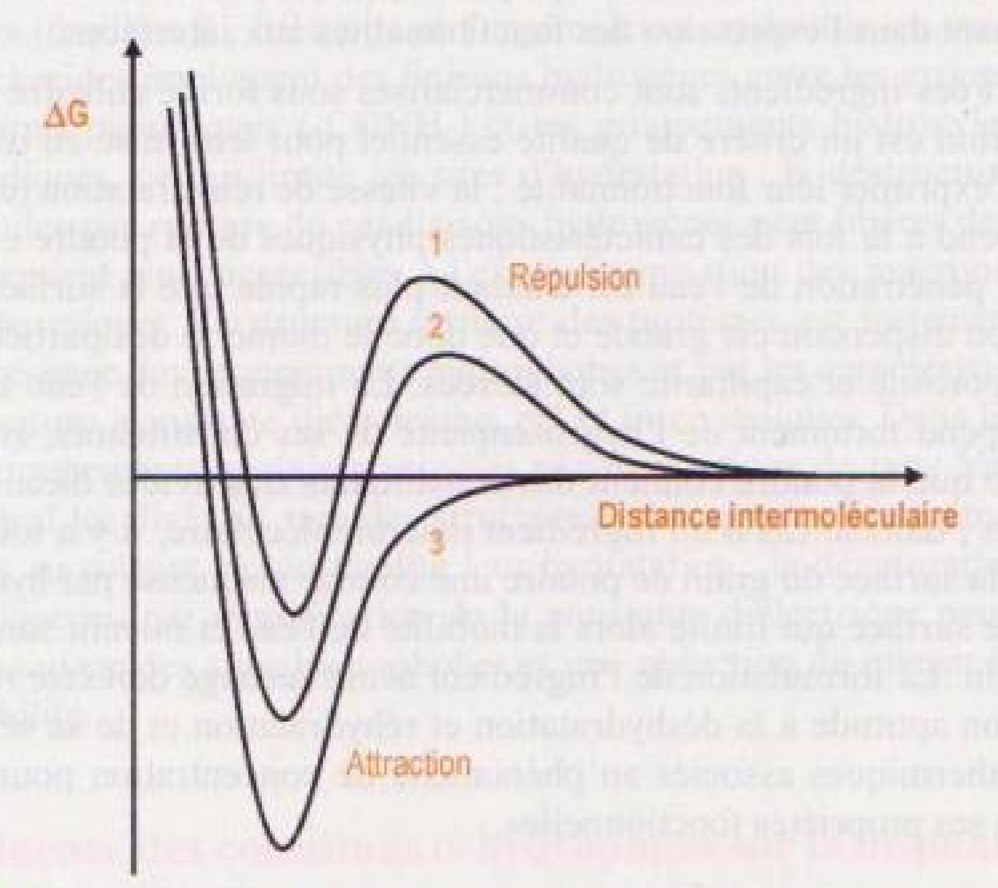


Figure 132 ■ Interactions entre molécules ou particules pour des concentrations croissantes en électrolytes (1, 2, 3).

Tous les traitements qui ont pour conséquence de réduire les forces répulsives, baisse de pH pour les polysaccharides anioniques, ajustement du pH au pH_i des protéines, ajout d'espèces ioniques (augmentation de la force ionique, écrantage des charges, interactions avec les groupements ionisables), hydrolyse et libération de fragments ionisés, entraînent une déstabilisation qui conduit à la formation d'agrégats ou de gels. Certains traitements modifient en outre la structure des macromolécules, ce qui peut se traduire notamment dans le cas des protéines par une augmentation de voluminosité et un accroissement de l'hydrophobie de surface ; cette déstructuration favorise les interactions hydrophobes et accroît les forces attractives. Les caractéristiques rhéologiques (composante visqueuse et élastique) et

optiques (opacité, transparence) sont très dépendantes du niveau de déstructuration des macromolécules avant la création des liaisons intermoléculaires.

2.2. Agrégation/gélification par réticulation covalente

Les phénomènes d'agrégation/gélification d'origine thermique peuvent résulter d'interactions covalentes en particulier dans le cas des protéines. Les groupements -SH et -NH_2 sont très réactifs, notamment en milieu légèrement basique ; par attaque nucléophile des thiolates (-S^-) sur des ponts disulfures (-S-S-), il y a rupture des liaisons -S-S- intramoléculaires et formations de nouveaux ponts disulfures intermoléculaires comme illustré figure 133 ; la rupture de certains ponts S-S a pour effet de modifier les structures secondaires et tertiaires des protéines, ce qui peut contribuer à déstabiliser les dimères ou polymères formés. Dans certaines conditions de traitement thermique de protéines, il y a production de déhydroalanine à partir de sérine ou cystéine suivie d'une attaque nucléophile du groupement NH_2 de la lysine qui conduit à la formation de lysinoalanine et crée des liaisons intermoléculaires (figure 134).

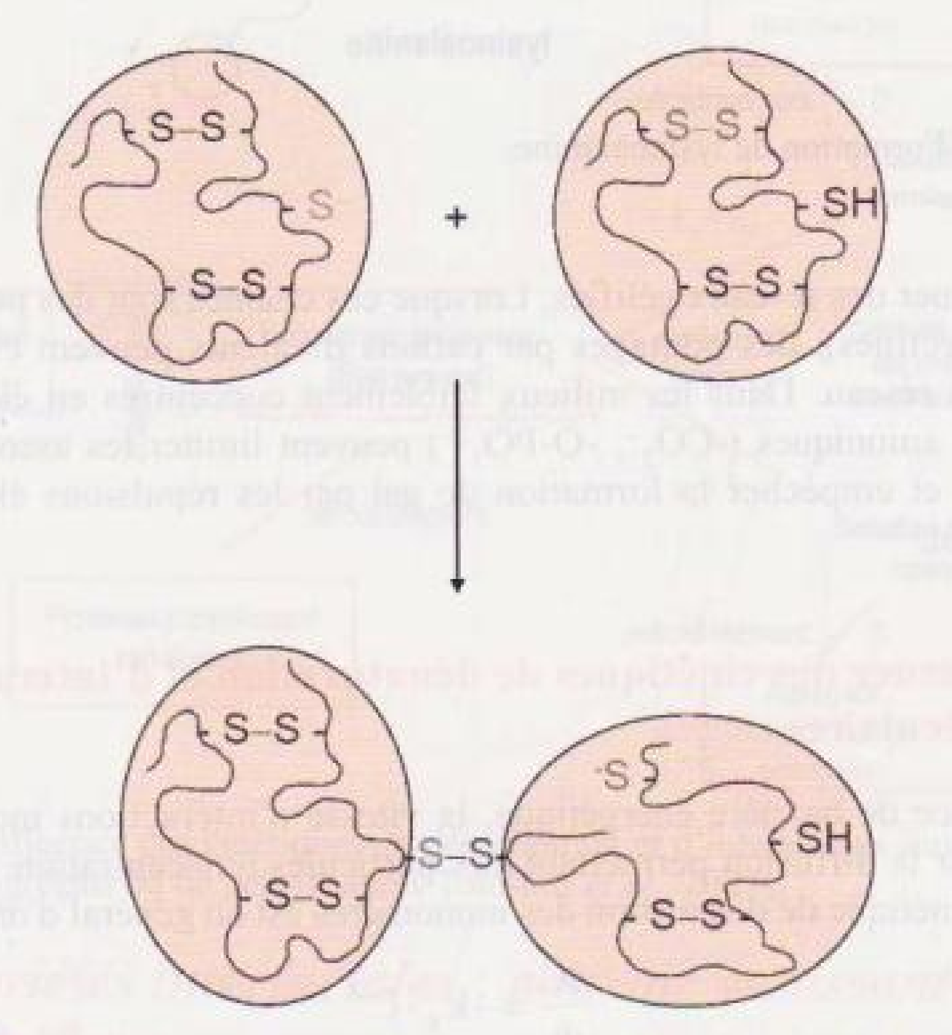


Figure 133 ■ Réticulation de protéines par attaque nucléophile de thiolate sur des ponts disulfures.

2.3. Transformation sol-gel

Certaines macromolécules polysaccharidiques présentent en solution diluée et à haute température des chaînes hélicoïdales lâches qui au cours du refroidissement peuvent s'associer pour former des doubles et triples hélices par liaisons hydrogè-

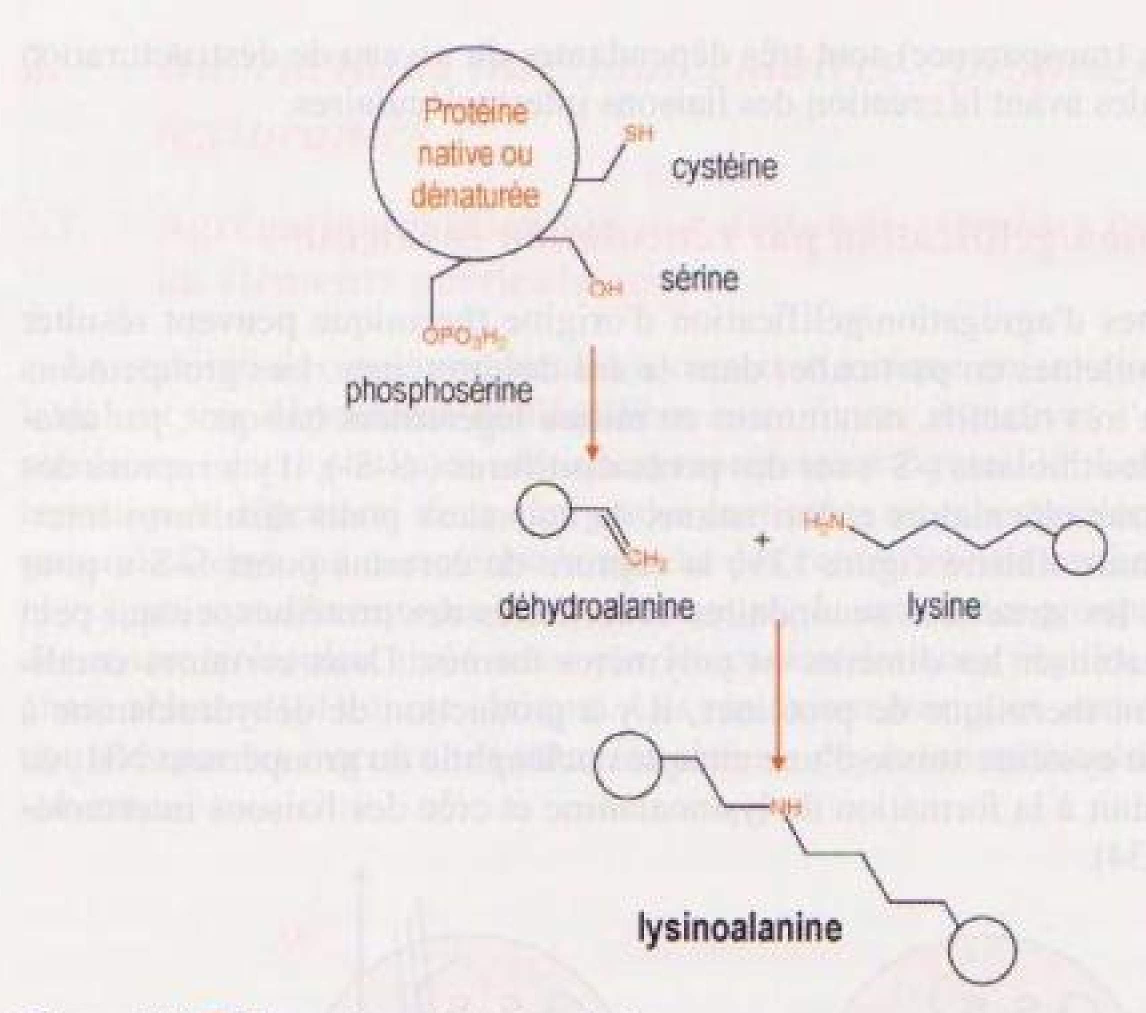


Figure 134 ■ Formation de lysinoalanine.

nes et constituer des réseaux gélifiés. Lorsque ces chaînes sont des polyélectrolytes (alginates, pectines), des pontages par cations divalents peuvent contribuer à la formation du réseau. Dans les milieux faiblement concentrés en électrolytes, les groupements anioniques ($-CO_2^-$, $-O-PO_3^{2-}$) peuvent limiter les associations intermoléculaires et empêcher la formation de gel par les répulsions électrostatiques qu'ils génèrent.

2.4. Influence des cinétiques de dénaturation et d'interactions moléculaires

En l'absence de barrière énergétique, la vitesse d'interactions moléculaires est gouvernée par la diffusion permettant aux particules (concentration C) d'entrer en contact ; la cinétique de disparition des monomères est en général d'ordre 2 :

$$\frac{dC}{dt} = -k_a \cdot C^2 \qquad [23]$$

Lorsque les macromolécules ou particules sont des polyélectrolytes, la constante de vitesse d'agrégation k_a dépend également du potentiel de surface qui contribue à créer des forces répulsives. Il est alors possible de moduler cette constante de vitesse en modifiant les caractéristiques de la phase solvante ou dispersante (pH, force ionique) qui permettront d'augmenter ou d'abaisser la barrière d'énergie.

La cinétique de dénaturation des macromolécules par affaiblissement des interactions ioniques, hydrogènes est le plus souvent d'ordre 1 :

$$\frac{dC}{dt} = -k_d \cdot C \qquad [24]$$

où k_d est la constante de dénaturation. La dénaturation se traduit parfois par un déploiement des chaînes macromoléculaires et un démasquage des sites hydrophobes.

Si la cinétique d'agrégation est très rapide par rapport à celle de dénaturation (barrière énergétique faible), les macromolécules ou particules faiblement dénaturées s'agrègent (figure 135) ; pour une concentration en macromolécules supérieure à la concentration critique de gélification (voie A ; figure 135), un gel opaque d'aspect granuleux est obtenu (coagulum). En dessous de cette concentration critique (voie B), on obtient une solution turbide d'agrégats précipités. Dans le cas contraire ou la dénaturation est favorisée par rapport à la réaction d'agrégation, des solutions translucides d'agrégats linéaires ou des gels lisses et transparents sont obtenus suivant que la concentration en macromolécules est supérieure (voie C) ou inférieure (voie D) à la concentration critique de gélification (figure 135).

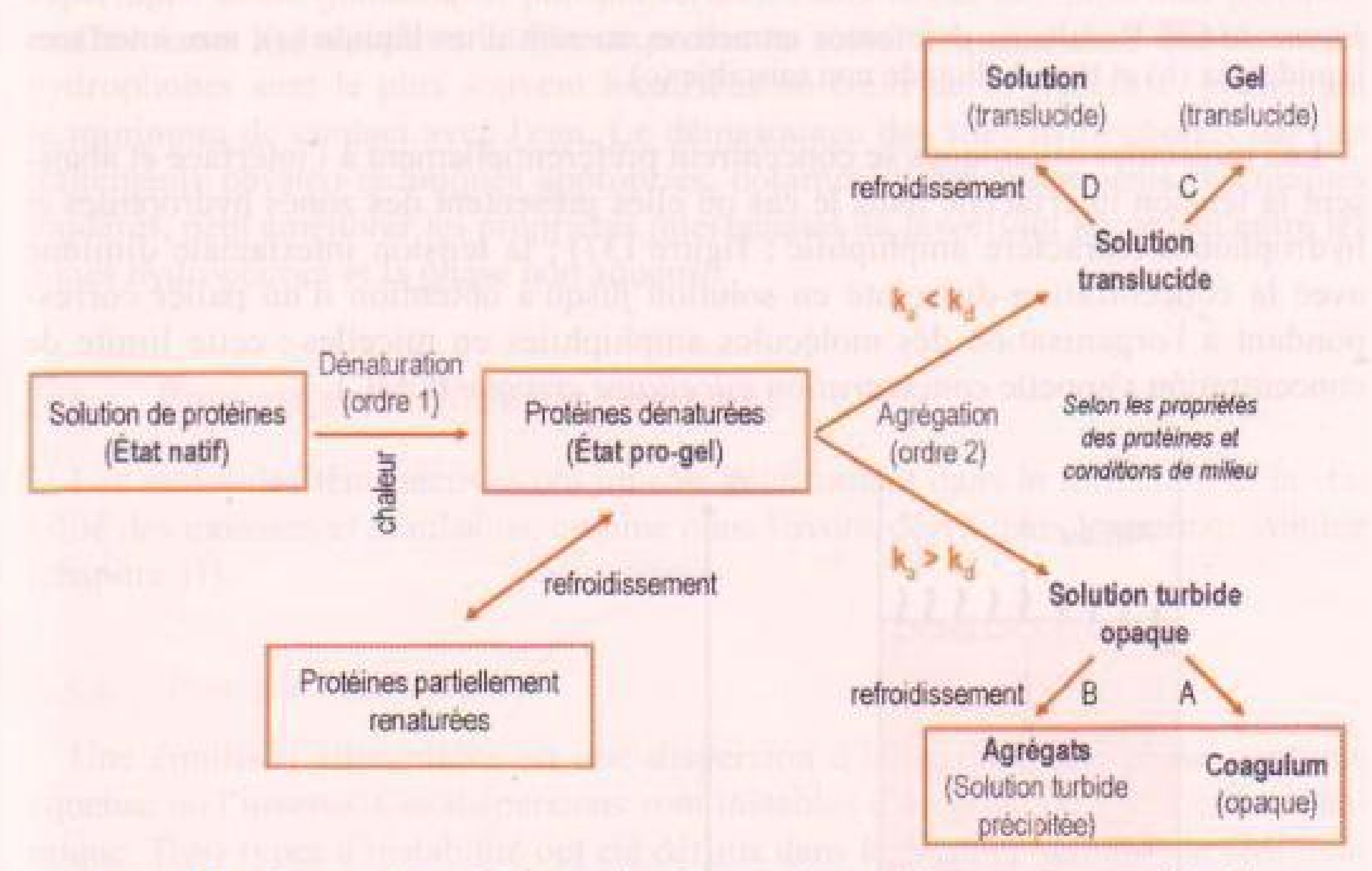


Figure 135 ■ Influence des cinétiques de dénaturation et d'interactions moléculaires sur la formation d'agrégats ou de gels (d'après Totosaus *et al.*, 2002).

3. *Propriétés interfaciales : pouvoir moussant-pouvoir émulsifiant*

3.1. Tension interfaciale

Au sein d'un liquide pur tel que l'eau, toutes les molécules se trouvent dans un champ de forces attractives qui s'équilibrent et dont la résultante est nulle (figure 136) ; en revanche, à l'interface de deux phases (liquide/gaz, liquide/liquide non miscible), les molécules sont dans un environnement dissymétrique et les forces attractives exercées par chacune des phases sur les molécules localisées à

l'interface sont différentes ; il en résulte une énergie ou tension interfaciale (σ ; $N{\cdot}m^{-1}$) qui correspond à une énergie par unité de surface ($J{\cdot}m^{-2}$) ; à titre d'exemple, la tension interfaciale de l'eau pure à 20 °C est de 73 $mN{\cdot}m^{-1}$ (premier volume, chapitre 1, § 1.).

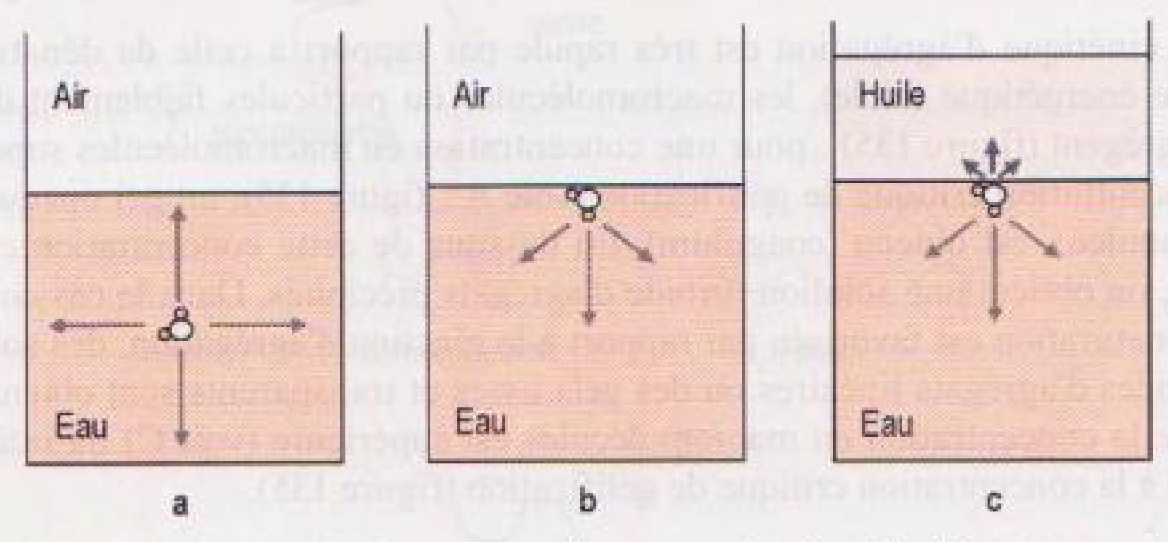


Figure 136 ■ Résultante des forces attractives au sein d'un liquide (a), aux interfaces liquide/gaz (b) et liquide/liquide non miscible (c).

Les molécules organiques se concentrent préférentiellement à l'interface et abaissent la tension interfaciale dans le cas où elles présentent des zones hydrophiles et hydrophobes (caractère amphiphile ; figure 137) ; la tension interfaciale diminue avec la concentration du soluté en solution jusqu'à obtention d'un palier correspondant à l'organisation des molécules amphiphiles en micelles ; cette limite de concentration s'appelle *concentration micellaire critique* (CMC).

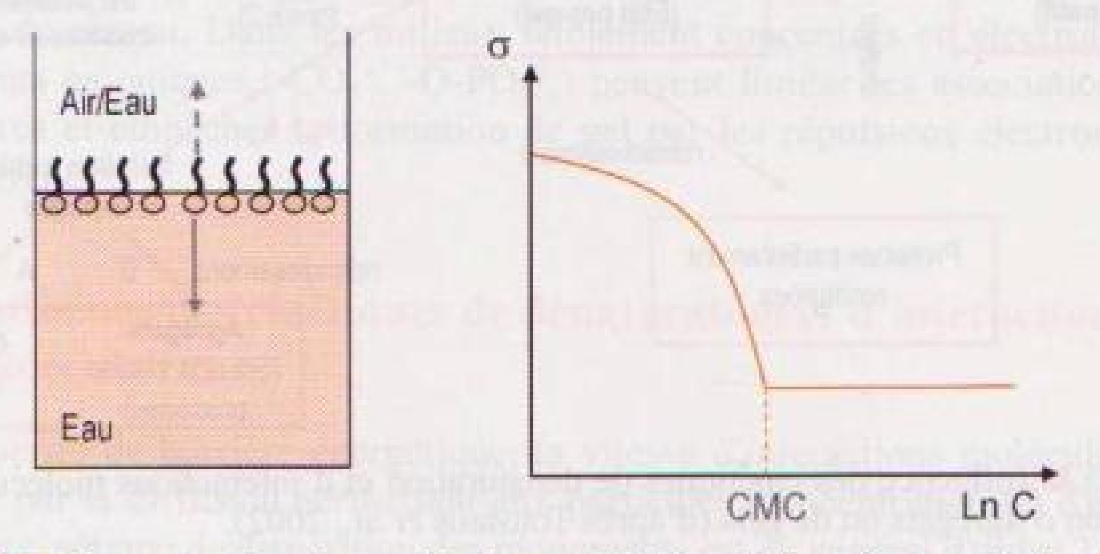


Figure 137 ■ Concentration des molécules amphiphiles à l'interface et abaissement de la tension superficielle.

La diffusion et l'adsorption des molécules à l'interface sont souvent des phénomènes lents ; celles-ci doivent déplacer les molécules de solvant présentes initialement et subissent, notamment dans le cas de macromolécules, des modifications conformationnelles qui peuvent faciliter la formation d'interactions intermoléculaires allant jusqu'à la formation d'un film interfacial cohésif. La concentration interfaciale de soluté absorbé C_i peut être obtenue par la loi de Gibbs :

$$C_i = \frac{C}{RT} \cdot \frac{d\sigma}{dt} \qquad [25]$$

où C est la concentration du soluté en solution, R la constante des gaz parfaits, T la température absolue et σ la tension superficielle.

3.2. Nature des substances tensioactives

Les substances tensioactives encore appelées surfactants sont des molécules présentant une tête polaire, ionique ou non, à caractère hydrophile et un fragment apolaire à caractère hydrophobe. Les groupements polaires ioniques sont le plus souvent des fonctions $-CO_2^-$, $-O-SO_3^-$, $-SO_3^-$, $-O-PO_3^{2-}$, $-NH_3^+$, $-NR_3^+$ et les groupements polaires non ioniques des fonctions OH ; les fragments hydrophobes sont en général des chaînes d'hydrocarbures, aliphatiques ou cycliques. Les macromolécules protéiques présentent en général de bonnes propriétés interfaciales car elles sont en effet constituées de zones hydrophobes (présence de proline, leucine, isoleucine, tryptophane, phénylalanine) et de zones hydrophiles (présence d'acide aspartique, acide glutamique, phosphosérine). Dans le cas des protéines globulaires, les zones hydrophiles sont bien exposées au solvant aqueux alors que les zones hydrophobes sont le plus souvent localisées au cœur de la structure, présentant le minimum de contact avec l'eau. Le démasquage des sites hydrophobes par des traitements physico-chimiques appropriés, notamment des traitements thermiques modérés, peut améliorer les propriétés interfaciales en favorisant le contact entre les zones hydrophobes et la phase non aqueuse.

3.3. Pouvoir émulsifiant et moussant

Les molécules tensioactives ont un rôle déterminant dans la formation et la stabilité des mousses et émulsions, comme nous l'avons décrit dans le premier volume (chapitre 11).

3.3.1. Pouvoir émulsifiant

Une émulsion alimentaire est une dispersion d'huile dans une phase continue aqueuse ou l'inverse. Ces dispersions sont instables d'un point de vue thermodynamique. Trois types d'instabilité ont été définis dans le premier volume : la sédimentation/crémage, la floculation/agrégation des gouttelettes et la coalescence.

Le phénomène de crémage ou sédimentation est dû à un déplacement des éléments dispersés sous l'effet de la gravité à une vitesse v ($m \cdot s^{-1}$) définie par la loi de Stockes dans laquelle D représente le diamètre des particules dispersées (m), Δρ la différence de masse volumique entre la phase dispersée et la phase continue ($kg \cdot m^{-3}$), g la pesanteur ($m \cdot s^{-2}$) et η la viscosité de la phase dispersante (Pa.s) :

$$v = \frac{D^2}{18\eta} \cdot \Delta\rho \cdot g \qquad [26]$$

Les moyens les plus efficaces pour réduire cette vitesse de migration sont de réduire la taille des gouttelettes et d'augmenter la viscosité de la phase continue. Nous avons vu précédemment qu'en utilisant des constituants susceptibles d'interagir avec

l'eau, il est possible d'accroître la viscosité de la phase dispersante dans le cas d'une émulsion d'huile dans l'eau. La réduction de la taille par des actions de cisaillement nécessite un apport d'énergie d'autant plus important que la surface interfaciale recherchée est élevée. L'abaissement de la tension interfaciale par action des tensioactifs présents à l'interface facilite la création de surface interphasique et l'obtention de diamètres de gouttelettes inférieurs à 1 µm, ce qui permet d'assurer une bonne stabilité. Les polymères aux propriétés tensioactives forment un film interfacial dont la rigidité contribue à la stabilité de l'émulsion. Par ailleurs, un film constitué de protéines ou de molécules chargées peut par les répulsions électrostatiques participer à la stabilisation de l'émulsion. Les traitements mécaniques permettant de créer des émulsions sont décrits dans le premier volume (cf. chapitre 11, § 2.2.).

Les propriétés émulsifiantes sont définies par trois critères :

- *capacité émulsifiante* : quantité d'huile émulsifiée par gramme d'émulsifiant au point d'inversion de phase détecté par diminution de viscosité ou de conductivité électrique ;
- *activité émulsifiante* : aire d'interface stabilisée par gramme d'émulsifiant ($m^2 \cdot g^{-1}$) mesurée par des méthodes optiques ;
- *stabilité de l'émulsion* : aptitude à conserver la structure de l'émulsion au cours du temps, déterminée par granulométrie ou par évaluation de sa résistance à un traitement physique (centrifugation, chauffage).

3.3.2. *Pouvoir moussant*

Une mousse est une dispersion de bulles de gaz dans une phase liquide continue ; le volume de gaz est généralement très supérieur à celui de la phase liquide. La formation de la mousse est favorisée par les agents tensioactifs qui permettent d'abaisser la tension interfaciale. Une mousse réalisée en présence de tensioactifs de faible poids moléculaires (savons) est instable car le diamètre des bulles est plus élevé que celui des gouttelettes d'une émulsion et la différence de masse volumique $\Delta\rho$ entre l'air et le liquide est de l'ordre de 10^3 $kg \cdot m^{-3}$, soit dix fois plus qu'entre l'eau et l'huile. En présence de polymères tensioactifs tels que des protéines, il y formation d'un film cohésif qui est favorisé par la concentration et la dénaturation des macromolécules à l'interface et stabilisé par interactions intermoléculaires. Les caractéristiques physico-chimiques de la phase aqueuse (pH, nature des espèces ioniques, force ionique) ont un rôle déterminant sur les propriétés des films interfaciaux. Les phénomènes de déstabilisation d'une mousse sont présentés dans le premier volume (chapitre 11, § 1.3.). Un des principaux phénomènes est le drainage qui est induit par les gradients de pression s'établissant entre les lamelles et les bordures de Plateau. Le drainage peut être limité en augmentant la viscosité du liquide lamellaire par ajout de sucre ou d'hydrocolloïdes.

Les mousses sont formées par bullage, par dépression (bombe aérosol) ou par battage. Les propriétés moussantes sont définies par deux critères :

- *capacité moussante* : quantité de mousse formée par unité de volume de solution ou de masse de soluté, qui peut également être évaluée par mesure de la masse volumique de la mousse ;

– *stabilité moussante* : aptitude de la mousse à conserver sa structure au cours du temps. En général, elle est déterminée par mesure du volume de liquide écoulé (drainage) pour un volume de mousse donné.

L'aptitude d'un agent tensioactif à créer de l'interface (mousse ou émulsion) et son aptitude à stabiliser le système biphasique ne vont pas toujours de pair. De même, les conditions physico-chimiques du milieu peuvent favoriser la formation ou stabiliser les systèmes dispersés. Les industriels sont donc souvent contraints de rechercher un compromis entre l'aptitude à créer de l'interface et celle à stabiliser la mousse ou l'émulsion pour un ingrédient et des conditions physico-chimiques du milieu donnés.

9

Bases physico-chimiques du fractionnement et technologies associées

Le principe d'extraction d'une molécule ou d'une famille de constituants biochimiques est basé sur leurs caractéristiques physico-chimiques et leurs spécificités par rapport à celles des autres constituants du milieu à extraire. Parmi ces caractéristiques, on prend généralement en considération la structure moléculaire ou supramoléculaire native ou induite par des modifications physico-chimiques (pH, force ionique, constante diélectrique, température), le caractère hydrophile/lipophile des molécules, leurs propriétés ioniques et leur affinité spécifique vis-à-vis d'un ligand particulier (enzyme-substrat, anticorps-antigène). Divers procédés technologiques permettant de séparer les molécules selon leurs caractéristiques physico-chimiques ont été développés ces dernières années et ont contribué à l'émergence d'une industrie des ingrédients ; parmi les procédés exploités aujourd'hui à l'échelle industrielle, on peut citer les techniques de séparation cellulaire et particulaire (centrifugation, microfiltration, décantation) et de fractionnement moléculaire exploitant les différences stériques (ultrafiltration, chromatographie d'exclusion), les propriétés ioniques (échanges d'ions, électrodialyse), le caractère lipophile (solvant organique) et l'affinité spécifique vis-à-vis d'un ligand (chromatographie d'affinité).

Les procédés d'extraction mis en œuvre génèrent systématiquement des coproduits, en quantité et potentiel polluant parfois conséquents et auxquels il faut trouver des débouchés alimentaires ou non alimentaires aussi valorisants que possible ; les contraintes relatives aux débouchés des coproduits doivent toujours être prises en compte dans l'évaluation technico-économique des procédés de séparation, même si ceux-ci sont appliqués à l'obtention de produits (molécules ou fractions moléculaires) à haute valeur ajoutée.

1. Séparation particulaire

La fraction à isoler ou à enrichir peut se présenter à l'état dispersé (émulsion, suspension colloïdale) ou soluble dans une phase aqueuse ou lipidique ; le caractère hydro- ou liposoluble d'une molécule ou d'une famille de constituants est très souvent dépendant des conditions physico-chimiques du milieu (température, pH,

force ionique, environnement ionique, constante diélectrique…) et peut être modifié de façon plus ou moins réversible par des traitements technologiques tels que les traitements thermiques. Lorsqu'il existe des traitements technologiques susceptibles d'insolubiliser la fraction à isoler sans altérer ses qualités nutritionnelles et fonctionnelles et la qualité de la phase dispersante, il convient d'exploiter cette voie technologique car les procédés de séparation particulaire sont en général d'un coût modéré et bien maîtrisés dans l'ensemble du secteur agroalimentaire.

1.1. Agrégation, insolubilisation, cristallisation d'éléments moléculaires

1.1.1. Agrégation isoélectrique, ionique, thermochimique

La solubilité des molécules à caractère hydrophile dépend de la nature des groupements fonctionnels qui les constituent, de leur poids moléculaire et de leur structure notamment dans le cas des macromolécules. Les groupements fonctionnels présentant une grande affinité vis-à-vis de l'eau sont essentiellement les groupements « hydroxyl » dont le nombre est très important dans la famille des glucides, et les groupements cationiques (NH_3^+) et anioniques (CO_2^-, SO_3^-, PO_4^{2-}) qui ont un rôle déterminant dans la solubilité des protéines et de certains polysaccharides. Les groupements particulièrement hydrophobes sont essentiellement de nature « alkyl » linéaire ou cyclique tels que ceux qui caractérisent les chaînes latérales des triglycérides et de certains acides aminés (leucine, isoleucine, proline, phénylalanine, tryptophane). Certaines molécules présentent à la fois des groupements hydrophobes et hydrophiles (caractère amphiphile) : c'est le cas par exemple des acides gras ($C_n H_p CO_2^-$), des phospholipides, des mono- ou diglycérides ou de certaines protéines ; ces molécules ont la capacité de se positionner aux interfaces eau/lipide ou eau/air ou de se structurer de telle sorte que les sites hydrophobes soient exposés le moins possible à la phase aqueuse, ce qui conduit à la formation de structure de type micellaire ou liposome au cœur hydrophobe et de surface hydrophile. Les interactions intermoléculaires par liaisons de type hydrogène, van der Waals ou ionique peuvent contribuer à accroître la taille moléculaire et à limiter la solubilité ; ces interactions peuvent être limitées lorsque les molécules présentent une forte densité de charge générant des répulsions électrostatiques.

La solubilité des molécules présentant des groupements ionisables de type acide ou basique est très dépendante des conditions physico-chimiques du milieu (pH et environnement ionique ; cf. chapitre 2 du premier volume) ; dans le cas des acides, la charge et la solubilité s'accroissent lorsque le pH augmente ($pH > pK_A$) et dans le cas des amines la protonation et la solubilité augmentent avec la diminution du pH ($pH < pK_B$). Lorsque les molécules présentent les deux types de groupements ionisables (caractère amphotère), ce qui est le cas notamment des protéines, la charge globale sera positive à bas pH, négative à pH élevé et nulle à un pH intermédiaire appelé pH isoionique (pH_i). Au pH_i, les protéines présentent donc un minimum d'hydratation et de répulsion électrostatique, ce qui conduit à un minimum de solubilité comme le montre la figure 138.

Le pH_i des acides aminés et protéines dépend du pH de demi-dissociation des fonctions acides et de demi protonation des groupements basiques (équivalent aux pK_A et pK_B dans les conditions de faible force ionique) ; le pH_i est déterminé par les pK des fonctions acides si la protéine contient plus d'acides aminés acides que d'acides aminés basiques et par les pK des fonctions basiques dans le cas contraire. Les pH de demi-dissociation et demi-protonation des acides et bases faibles peuvent varier de façon plus ou moins importante avec la force ionique du milieu ; les pK apparents ou pH de demi-dissociation des acides diminuent avec la force ionique et ceux des bases augmentent ; en conséquence le pH_i des protéines à caractère acide peut diminuer et ceux des protéines à caractère basique augmenter ; à titre d'exemple le pHi des caséines du lait peut varier de 0,5 unité pH pour une force ionique comprise entre 0 et 0,1 M.

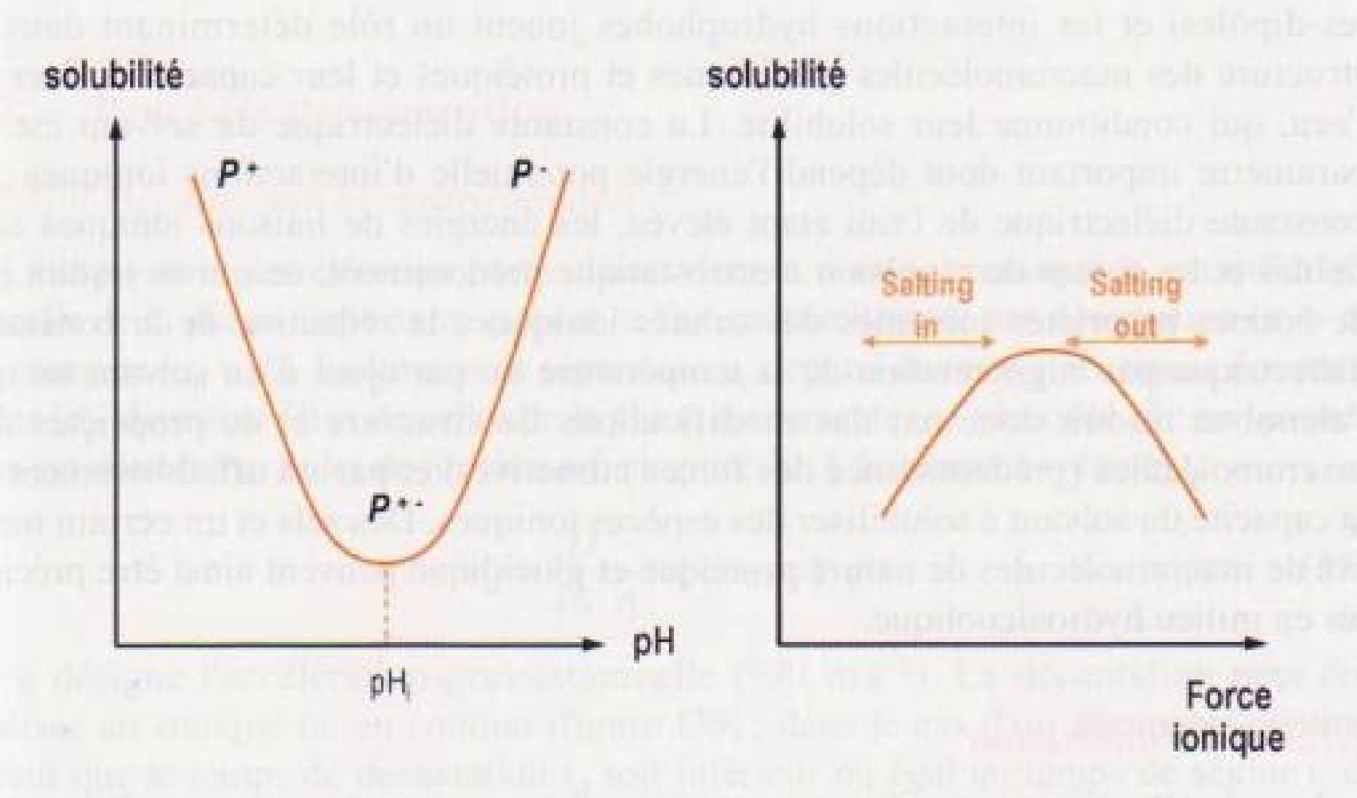


Figure 138 ■ Influence du pH et de la force ionique sur la solubilité des protéines.

La solubilité des protéines peut dépendre également de la force ionique du milieu ; l'insolubilisation pourra dans certains cas être obtenue en réduisant la force ionique et dans d'autres cas en l'augmentant. L'agrégation et précipitation de certaines macromolécules de type polysaccharidique et protéique peuvent être induites par des ions présentant pour elles une grande affinité, ce qui conduit à un écrantage de charges, et/ou par des ions qui modifient les caractéristiques de l'eau et favorisant les propriétés solvantes (*salting in*) ou les défavorisant (*salting out*). L'insolubilisation par les sels présente l'inconvénient majeur d'accroître la charge minérale des coproduits et de complexifier de ce fait leur valorisation ou leur traitement.

L'agrégation et précipitation de macromolécules de nature protéique peuvent être favorisées par des traitements thermiques ; un certain nombre de protéines présentent une bonne stabilité sur une large gamme de pH de par leur structure tertiaire exposant à l'extérieur les groupements hydrophiles et masquant vers l'intérieur les groupements hydrophobes ; le chauffage a généralement pour effet de modifier la structure tertiaire, parfois la structure secondaire, ce qui conduit au démasquage de groupements hydrophobes et/ou de groupements très réactifs tels que le SH et favo-

rise des interactions hydrophobes et covalentes par des échanges SH/S-S (figure 133). Les protéines thermiquement dénaturées s'insolubilisent au cours du traitement ou deviennent très sensibles aux conditions de pH et de force ionique. Le niveau de dénaturation et d'agrégation des protéines, et en conséquence leur solubilité, dépendent de la concentration en protéine selon l'ordre de la réaction, des caractéristiques physico-chimiques du milieu (pH, force ionique, nature des ions) et des conditions du traitement thermique (température et cinétique de montée en température).

1.1.2. Insolubilisation par abaissement de la constante diélectrique du solvant

Les interactions ioniques (ions-ions, ions-dipôles), les liaisons hydrogène (dipôles-dipôles) et les interactions hydrophobes jouent un rôle déterminant dans la structure des macromolécules glucidiques et protéiques et leur capacité à fixer de l'eau, qui conditionne leur solubilité. La constante diélectrique du solvant est un paramètre important dont dépend l'énergie potentielle d'interactions ioniques ; la constante diélectrique de l'eau étant élevée, les énergies de liaisons ioniques sont faibles et les forces de répulsion électrostatique prédominent, ce qui se traduit par de bonnes propriétés solvantes des solutés ioniques ; la réduction de la constante diélectrique par augmentation de la température ou par ajout d'un solvant tel que l'alcool se traduit donc par des modifications de structure et de propriétés des macromolécules (prédominance des forces attractives) et par un affaiblissement de la capacité du solvant à solubiliser des espèces ioniques. Des sels et un certain nombre de macromolécules de nature protéique et glucidique peuvent ainsi être précipités en milieu hydroalcoolique.

1.1.3. Cristallisation

La cristallisation est un changement d'état qui correspond au passage d'un soluté en solution à son état solide (sucres, sels) ou d'un corps fondu à l'état solide (triglycérides).

Les solutés à caractère très hydrophile (sels, glucides) ont une très grande capacité à fixer de l'eau et peuvent à partir d'une certaine concentration créer des conditions solvantes limitantes, appelées seuil de solubilité, au-delà duquel les molécules non solubilisables restent à l'état solide sous une forme amorphe ou cristallisée. Le seuil de solubilité des sucres et des sels augmente en général avec la température ; il existe toutefois des exceptions, identifiées sous le terme de sels de solubilité inverse (carbonate de calcium et phosphate de calcium par exemple).

La cristallisation d'un soluté suppose donc d'atteindre son seuil de solubilité, puis de se maintenir au-delà. En pratique, le produit est d'abord concentré (élimination de l'eau solvante par évaporation ou par osmose inverse) puis refroidit progressivement afin d'abaisser le seuil de solubilité au fur à mesure que le changement d'état se déroule. La formation de petits cristaux ou de solide amorphe est favorisée par un refroidissement très rapide ; dans le cas contraire on génère de gros cristaux, ce qui peut par la suite faciliter leur extraction. La cristallisation peut également être amorcée par ajout de petits cristaux dans le concentré (ensemencement).

Dans le cas du passage de l'état fondu à l'état solide, il suffit d'abaisser la température à une valeur inférieure à la température de fusion ; c'est le cas par exemple des triglycérides d'une huile ou d'une graisse dont les points de fusion peuvent couvrir une large gamme de température ; leur point de fusion dépend de la longueur des trois chaînes d'acides gras ainsi que de leur niveau d'insaturation (nombre de doubles liaisons) ; par refroidissement progressif de l'huile, les triglycérides à point de fusion élevé cristallisent.

Le changement d'état s'accompagne d'une libération d'énergie et d'une diminution de la concentration en solutés à l'interface solide/liquide qui peuvent réduire la cinétique de cristallisation ; il faut alors dissiper l'énergie et favoriser le transfert de solutés du milieu à l'interface par des agitations modérées pour ne pas casser les cristaux en formation.

1.2. Procédés de séparation

1.2.1. Décantation et centrifugation

La séparation des éléments particulaires dont la masse volumique ρ_p est différente de celle de la phase dispersante ρ_f peut se faire naturellement par décantation ($\rho_p > \rho_f$) ou crémage ($\rho_p < \rho_f$). La vitesse de séparation v_d dépend des caractéristiques des particules (ρ_p, diamètre D) et de celles de la phase dispersante (ρ_f, viscosité η) ; son expression est donnée par la loi de Stockes (cf. chapitre 10, § 5., premier volume) :

$$v_d = \frac{D^2}{18 \cdot \eta} \cdot (\rho_p - \rho_f) \cdot g \qquad [27]$$

où g désigne l'accélération gravitationnelle (9,81 m·s^{-2}). La décantation peut être réalisée en statique ou en continu (figure 139) ; dans le cas d'un décanteur continu, il faut que le temps de décantation t_d soit inférieur ou égal au temps de séjour t_s du fluide qui transporte la particule ; en effet, celle-ci est séparée si elle atteint le fond du décanteur avant de l'avoir traversé. Si h et L désignent respectivement la hauteur et la longueur du décanteur et v_f la vitesse de passage du fluide, cette condition s'écrit :

$$t_d = \frac{h}{v_d} \leq t_s = \frac{L}{v_f} \qquad [28]$$

La vitesse maximum de passage est donc :

$$v_f \leq \frac{L}{h} \cdot v_d \qquad [29]$$

Si l est la largeur du décanteur, le débit volumique d'alimentation du décanteur $\dot{V}$ s'écrit :

$$\dot{V} = h \cdot l \cdot v_f \qquad [30]$$

Le débit limite permettant la séparation de la particule est donc en combinant ([29] et [30]) :

$$\dot{V} = L \cdot l \cdot v_d = A \cdot v_d \qquad [31]$$

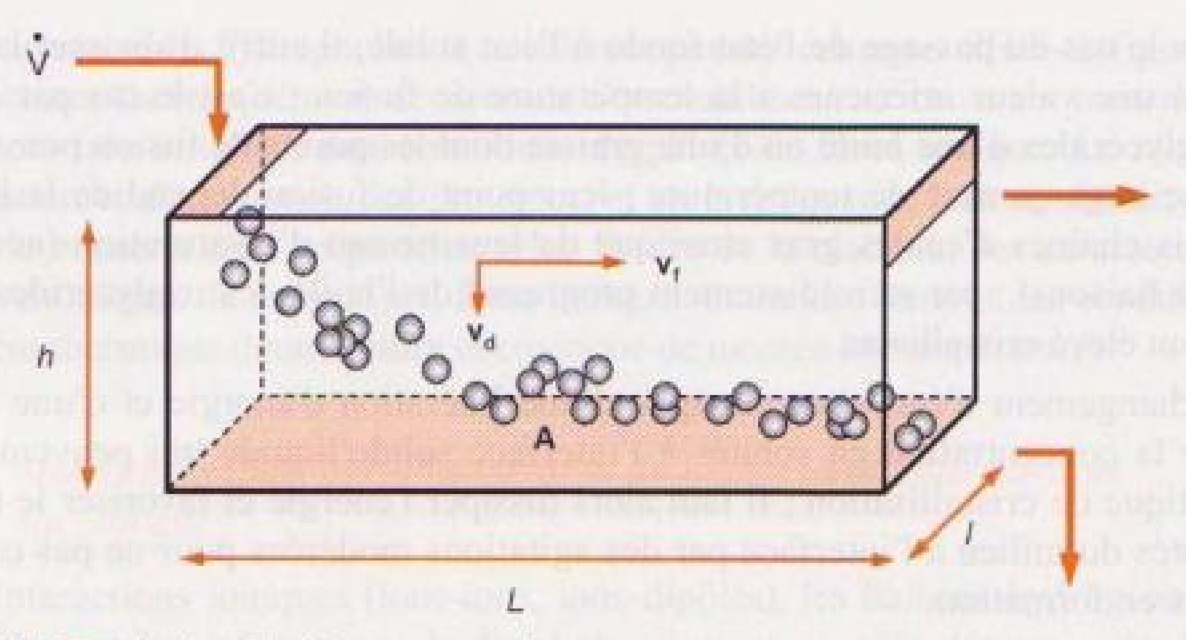


Figure 139 ■ Principe du décanteur continu.

où A est la surface horizontale du décanteur (m^2). Le débit limite est par conséquent indépendant de la hauteur du décanteur : lorsque le chemin de décantation diminue (diminution de *h*), la vitesse de passage s'accroît dans les mêmes proportions (diminution de la section à débit constant).

La séparation particulaire peut être accélérée par centrifugation ; le schéma de principe d'un décanteur centrifuge est présenté dans le premier volume (cf. chapitre 10, § 5.) ; la vitesse de séparation dépend comme précédemment des caractéristiques des particules et de la phase dispersante et des conditions de centrifugation (vitesse angulaire ω et rayon de centrifugation *R*) :

$$v_d = \frac{D^2}{18 \cdot \eta} \cdot (\rho_p - \rho_f) \cdot \omega^2 \cdot R \qquad [32]$$

1.2.2. Microfiltration

La séparation des éléments particulaires peut être réalisée par filtration frontale de façon statique ou continue (figure 140) ou par filtration tangentielle (figure 141). En filtration frontale, les particules s'accumulent à la surface du filtre en constituant un dépôt, ce qui a pour effet d'accroître la résistance au transfert R. Le débit volumique de filtration $\dot{V}$ (m^3·s^{-1}) dépend de la différence de pression de part et d'autre de la surface filtrante (ΔP ; Pa), de la viscosité de la phase dispersante (η ; Pa.s), de la résistance hydrodynamique (R ; m^{-1}) et de la surface filtrante (A ; m^2). L'expression de la densité de flux de perméation J (m·s^{-1}), rapport de $\dot{V}$ et A, est donnée par la loi de Darcy (cf. chapitre 10, § 5., premier volume) :

$$J = \frac{\dot{V}}{A} = \frac{dV}{A \cdot dt} = \frac{1}{R} \cdot \frac{\Delta P}{\eta} \qquad [33]$$

Dans le cas de la filtration statique, la différence de pression à l'instant t est égale à :

$$\Delta P = h_t \cdot \rho \cdot g = \frac{V_0 - V_t}{A} \cdot \rho \cdot g \qquad [34]$$

En combinant [33] et [34], on obtient :

$$\frac{dV}{V_0 - V_t} = \frac{\rho \cdot g}{\eta \cdot R} \cdot dt$$

Qui s'intègre en :

$$V_t = V_0 \cdot \left(1 - e^{-\frac{\rho \cdot g}{\eta \cdot R} t} \right) \quad [35]$$

Un des inconvénients de la filtration frontale est l'augmentation de la résistance hydrodynamique R au fur et à mesure de l'accumulation des éléments particulaires à la surface de la membrane ; si on augmente la pression pour compenser l'augmentation de R, on favorise le compactage du dépôt particulaire, ce qui contribue en retour à accroître R.

La filtration tangentielle présente l'avantage de limiter l'accumulation des éléments particulaires à la surface de la membrane. Les lois de transfert et la conduite de la microfiltration tangentielle sont décrites dans le premier volume (cf. chapitre 10, § 5.).

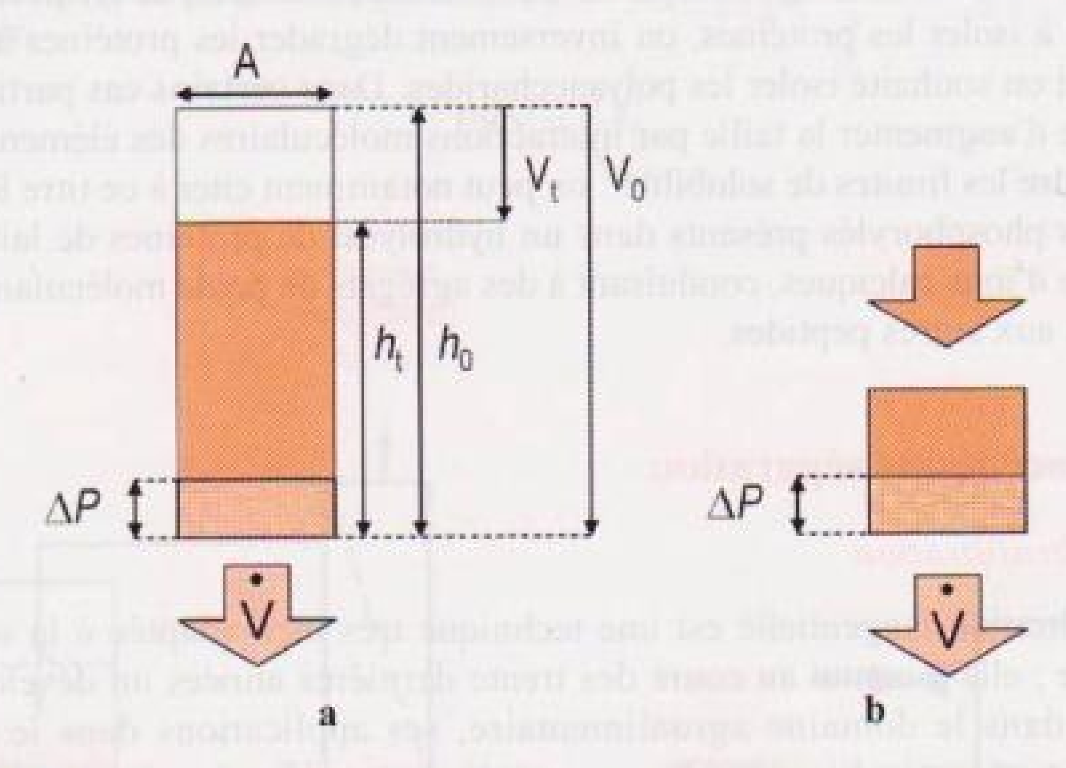


Figure 140 ■ Principe de la filtration frontale. **a** : filtration statique ; **b** : filtration continue.

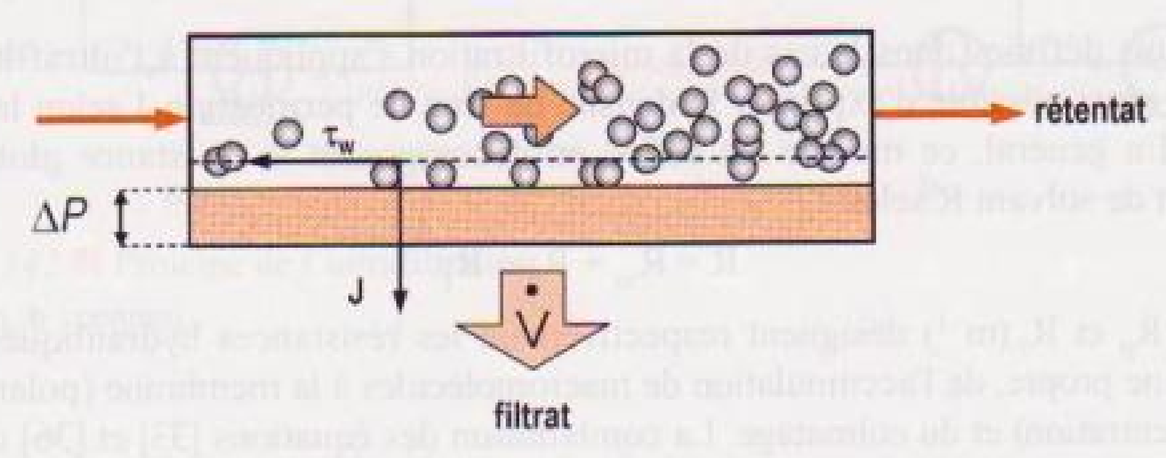


Figure 141 ■ Filtration tangentielle.

2. Séparation moléculaire de nature stérique

2.1. Réduction ou accroissement de la taille des molécules à séparer

Lorsque la molécule à isoler a un poids moléculaire très différent de celui des autres constituants du milieu, la séparation moléculaire basée sur la taille est assez aisée : c'est par exemple le cas lorsque l'on cherche à séparer les protéines du lait, du lactosérum ou du blanc d'œuf de leurs glucides et sels minéraux. En effet, l'écart de poids moléculaire entre ces catégories de constituants est important dans ces produits, de moins de 400 $g{\cdot}mol^{-1}$ pour l'ensemble glucides/sels à plus de 15 000 $g{\cdot}mol^{-1}$ pour les protéines.

Dans le cas où les molécules à séparer sont de poids moléculaires assez proches, la stratégie consiste à amplifier cet écart soit en réduisant la taille des composés à éliminer par dégradation, soit en augmentant la taille des éléments à extraire ou à éliminer par interactions moléculaires. Dans le cas d'un milieu contenant des polysaccharides et des protéines, on peut ainsi envisager d'hydrolyser spécifiquement les macromolécules glucidiques à l'aide d'enzymes (amylases, pectinases) si on cherche à isoler les protéines, ou inversement dégrader les protéines à l'aide de protéases si on souhaite isoler les polysaccharides. Dans certains cas particuliers, il est possible d'augmenter la taille par interactions moléculaires des éléments à isoler sans atteindre les limites de solubilité : on peut notamment citer à ce titre le pontage de peptides phosphorylés présents dans un hydrolysat de protéines de lait par l'intermédiaire d'ions calciques, conduisant à des agrégats de poids moléculaires élevés par rapport aux autres peptides.

2.2. Procédés de séparation

2.2.1. *Ultrafiltration*

L'ultrafiltration tangentielle est une technique très bien adaptée à la séparation moléculaire ; elle a connu au cours des trente dernières années un développement important dans le domaine agroalimentaire, ses applications dans le domaine concernant tout particulièrement la concentration et purification des protéines.

2.2.1.1. *Lois de transfert de solvant*

Les lois définies dans le cas de la microfiltration s'appliquent à l'ultrafiltration, et il est ainsi possible d'exprimer la densité de flux de perméation J selon la loi de Darcy. En général, ce modèle est affiné en décomposant la résistance globale au transfert de solvant R selon :

$$R = R_m + R_p + R_f \qquad [36]$$

où R_m, R_p et R_f (m^{-1}) désignent respectivement les résistances hydrauliques de la membrane propre, de l'accumulation de macromolécules à la membrane (polarisation de concentration) et du colmatage. La combinaison des équations [33] et [36] conduit à la loi des résistances en série (cf. chapitre 10, § 5., premier volume) :

$$J = \frac{1}{(R_m + R_p + R_f)} \cdot \frac{PT}{\eta} \qquad [37]$$

La résistance R_p liée à l'accumulation de macromolécules à la surface membranaire dépend des paramètres d'ultrafiltration et tout particulièrement du rapport J/τ_w, τ_w étant la contrainte tangentielle représentée figure 141 ; ce rapport traduit la compétition entre l'apport convectif des molécules à la membrane qui dépend de J et l'élimination du dépôt par érosion qui augmente avec τ_w. Comme nous l'avons déjà signalé, il est possible de compenser momentanément la diminution de J due à l'accroissement de R par une augmentation de la pression transmembranaire *PT*, mais cela présente toutefois le risque de modifier la sélectivité du support filtrant par compactage du dépôt, et conduit généralement à terme à une aggravation du colmatage. La résistance hydrodynamique R_p augmente avec la concentration en macromolécules et la résistance R_f avec la durée de fonctionnement.

L'opération d'ultrafiltration peut être conduite en batch ou en continu (figure 142). Dans le cas du batch, la densité de flux décroît avec le facteur de réduction volumique FRV, qui se définit comme le rapport du volume initial (V_0) et à l'instant t (V_t) du liquide filtré, et traduit l'augmentation de la concentration en macromolécules (figure 143) :

$$FRV = \frac{V_0}{V_t} \qquad [38]$$

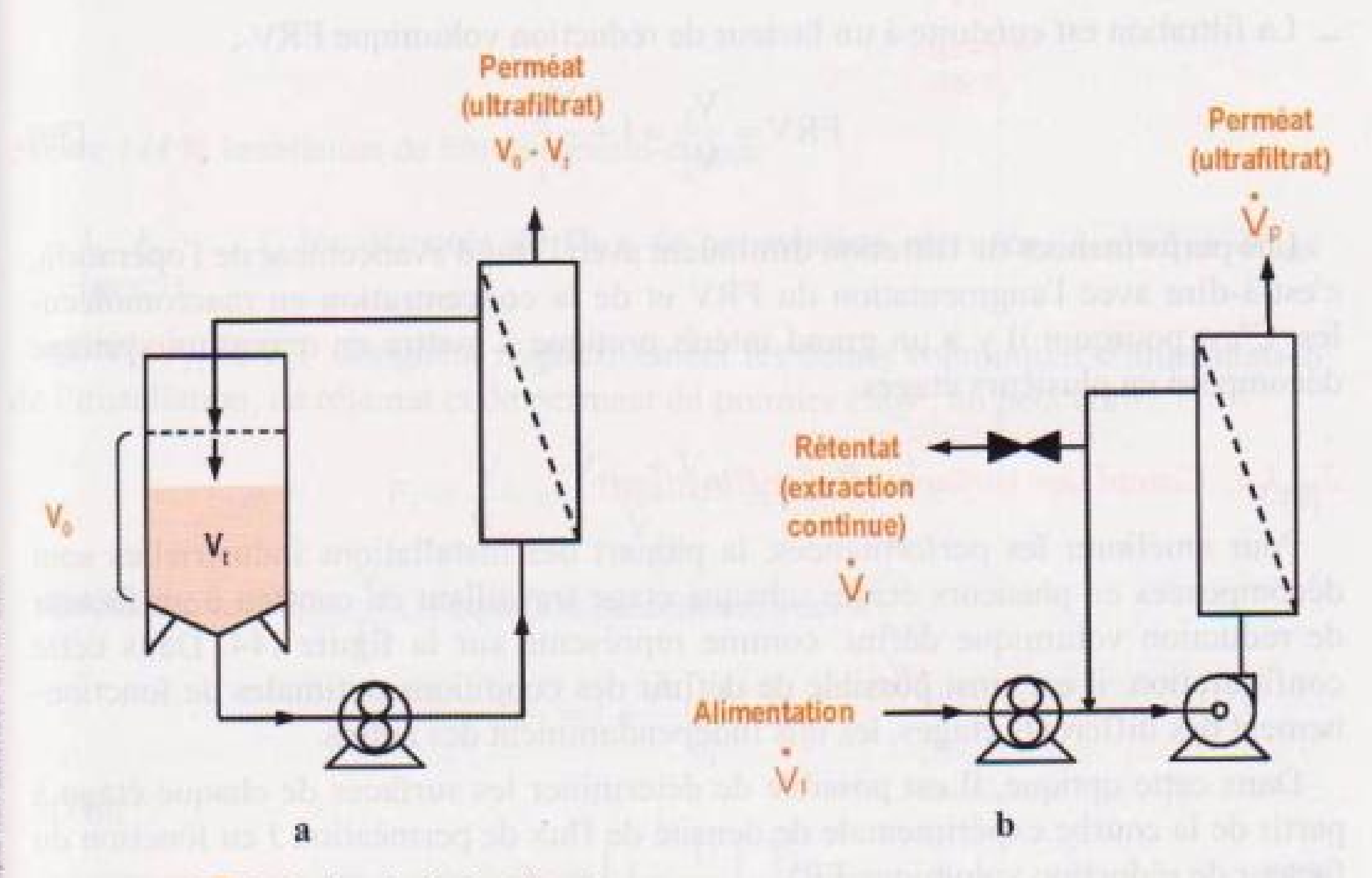


Figure 142 ■ Principe de l'ultrafiltration.
a : batch. **b** : continu.

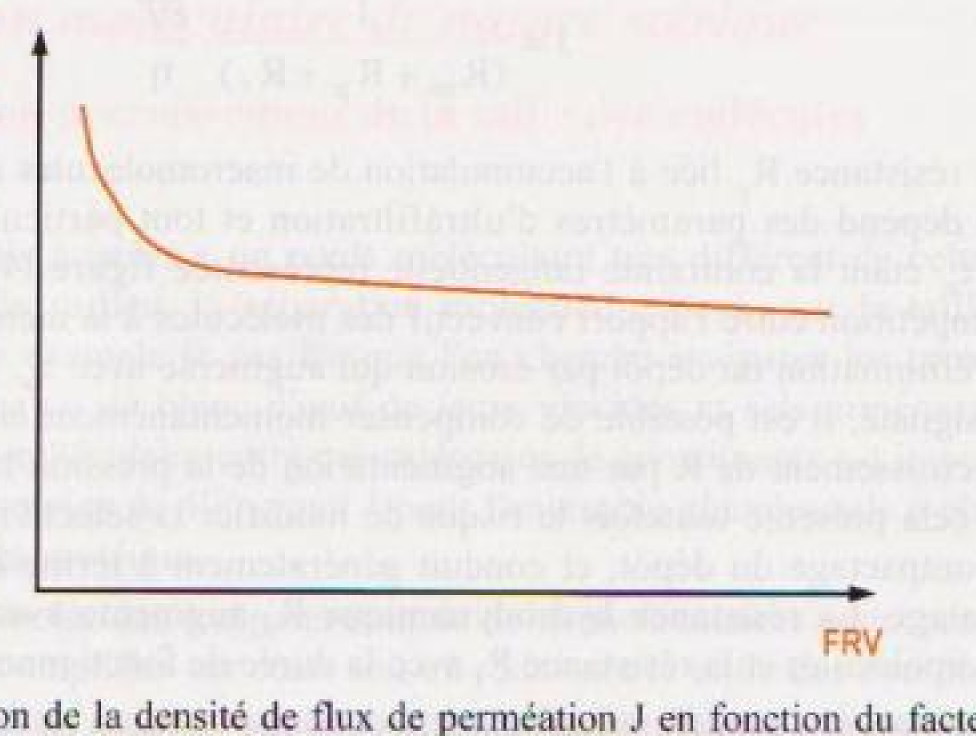


Figure 143 ■ Évolution de la densité de flux de perméation J en fonction du facteur de réduction volumique.

Dans une opération en continu, l'ultrafiltre est alimenté à un débit $\dot{V}_l$ qui est égal à la somme des débits de perméat $\dot{V}_p$ et de rétentat $\dot{V}_r$:

$$\dot{V}_l = \dot{V}_r + \dot{V}_p$$

La filtration est conduite à un facteur de réduction volumique FRV :

$$\mathrm{FRV} = \frac{\dot{V}_l}{\dot{V}_r} = 1 + \frac{\dot{V}_p}{\dot{V}_r} \qquad [39]$$

Les performances de filtration diminuent avec l'état d'avancement de l'opération, c'est-à-dire avec l'augmentation du FRV et de la concentration en macromolécules. C'est pourquoi il y a un grand intérêt pratique à mettre en œuvre un système décomposé en plusieurs étages.

2.2.1.2. Calcul des surfaces d'ultrafiltration

Pour améliorer les performances, la plupart des installations industrielles sont décomposées en plusieurs étages, chaque étage travaillant en continu à un facteur de réduction volumique défini, comme représenté sur la figure 144. Dans cette configuration, il est ainsi possible de définir des conditions optimales de fonctionnement des différents étages, les uns indépendamment des autres.

Dans cette optique, il est possible de déterminer les surfaces de chaque étage à partir de la courbe expérimentale de densité de flux de perméation J en fonction du facteur de réduction volumique FRV.

Soient :

– F_1, F_2, …, F_n les facteurs de réduction volumique correspondant à chaque étage ;

– A_1, A_2, …, A_n les surfaces de chaque étage (m^2) ;

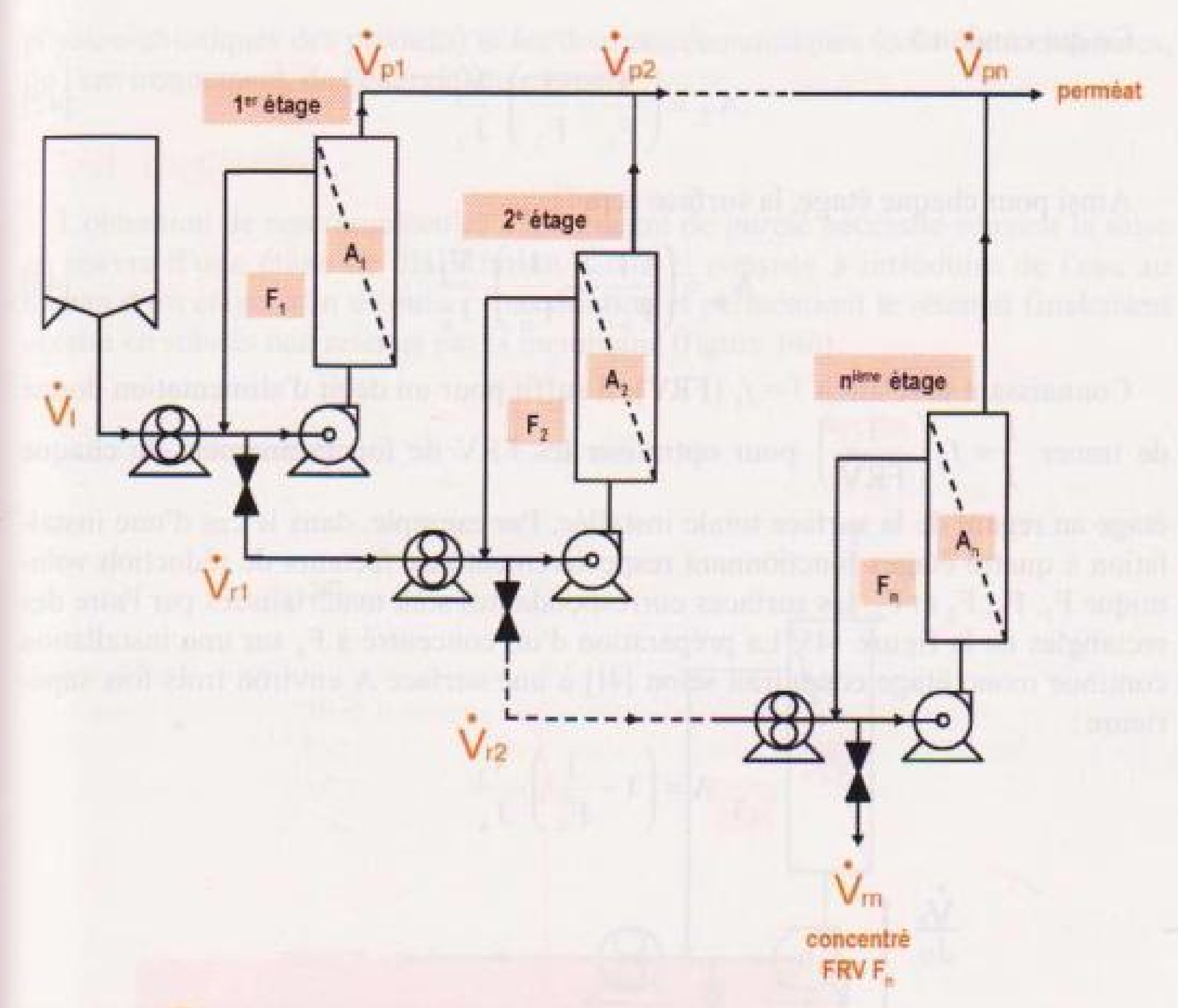


Figure 144 ■ Installation de filtration multi-étages.

– J_1, J_2, …, J_n les densités de flux de perméation mesurées à chaque étage ($m{\cdot}s^{-1}$).

Si $\dot{V}_1, \dot{V}_{r1}$ et $\dot{V}_{p1}$ désignent respectivement les débits volumiques d'alimentation de l'installation, de rétentat et de perméat du premier étage, on peut écrire :

$$F_1 = \frac{\dot{V}_1}{\dot{V}_{r1}} = \frac{\dot{V}_{r1} + \dot{V}_{p1}}{\dot{V}_{r1}} = 1 + \frac{A_1 \cdot J_1}{\dot{V}_{r1}} \qquad [40]$$

Sachant que $\dot{V}_{r1} = \frac{\dot{V}_1}{F_1}$, l'équation précédente s'écrit :

$$F_1 = 1 + \frac{A_1 \cdot J_1}{\dot{V}_1} \cdot F_1$$

D'où :

$$A_1 = \left(1 - \frac{1}{F_1}\right) \cdot \frac{\dot{V}_1}{J_1} \qquad [41]$$

De même :

$$F_2 = \frac{\dot{V}_1}{\dot{V}_{r2}} = 1 + \frac{A_1 \cdot J_1 + A_2 \cdot J_2}{\dot{V}_{r2}} = 1 + \frac{A_1 \cdot J_1 + A_2 \cdot J_2}{\dot{V}_1} \cdot F_2$$

Ce qui conduit à :

$$A_2 = \left(\frac{1}{F_1} - \frac{1}{F_2} \right) \cdot \frac{\dot{V}_1}{J_2} \qquad [42]$$

Ainsi pour chaque étage, la surface sera :

$$A_n = \left(\frac{1}{F_{n-1}} - \frac{1}{F_n} \right) \cdot \frac{\dot{V}_1}{J_n} \qquad [43]$$

Connaissant la relation $J = f_1$ (FRV), il suffit pour un débit d'alimentation donné de tracer $\frac{1}{J} = f_2\left(\frac{1}{FRV}\right)$ pour optimiser les FRV de fonctionnement de chaque étage au regard de la surface totale installée. Par exemple, dans le cas d'une installation à quatre étages fonctionnant respectivement aux facteurs de réduction volumique F_1, F_2, F_3 et F_4, les surfaces correspondantes sont matérialisées par l'aire des rectangles de la figure 145. La préparation d'un concentré à F_4 sur une installation continue mono étage conduirait selon [41] à une surface A environ trois fois supérieure :

$$A = \left(1 - \frac{1}{F_4} \right) \cdot \frac{\dot{V}_1}{J_4}$$

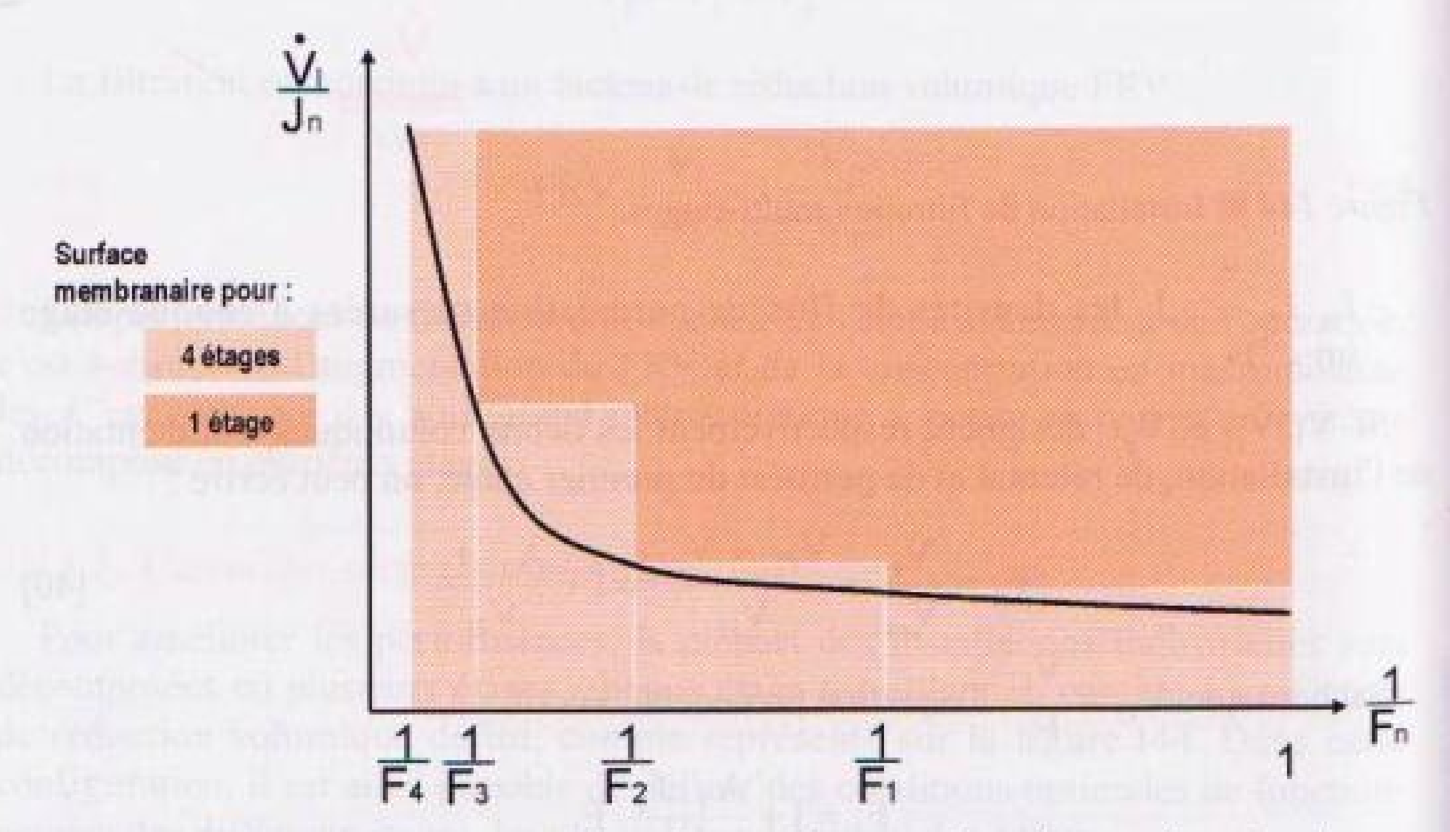


Figure 145 ■ Représentation graphique des surfaces membranaires en fonction du nombre d'étages de l'installation.

On peut chercher à dimensionner l'installation de façon à utiliser le minimum de surface membranaire, ce qui conduit à mettre en œuvre le maximum d'étages, surtout aux facteurs de réduction volumique élevés. Cependant, au-delà d'un certain nombre d'étages, le coût d'investissement du matériel environné (pompes, capteurs, etc.) devient supérieur au bénéfice réalisé en terme de surface installée. Le compromis se situe en général entre 3 et 4 étages, suivant les applications (caractéristiques

physico-chimiques des produits) et les données économiques (coût des membranes, de l'environnement, de l'énergie) du moment.

2.2.1.3. Diafiltration

L'obtention de macromolécules à haut degré de pureté nécessite souvent la mise en œuvre d'une étape de diafiltration. Celle-ci consiste à introduire de l'eau au niveau d'un étage, afin d'épuiser (par dilution et perméation) le rétentat finalement obtenu en solutés non retenus par la membrane (figure 146).

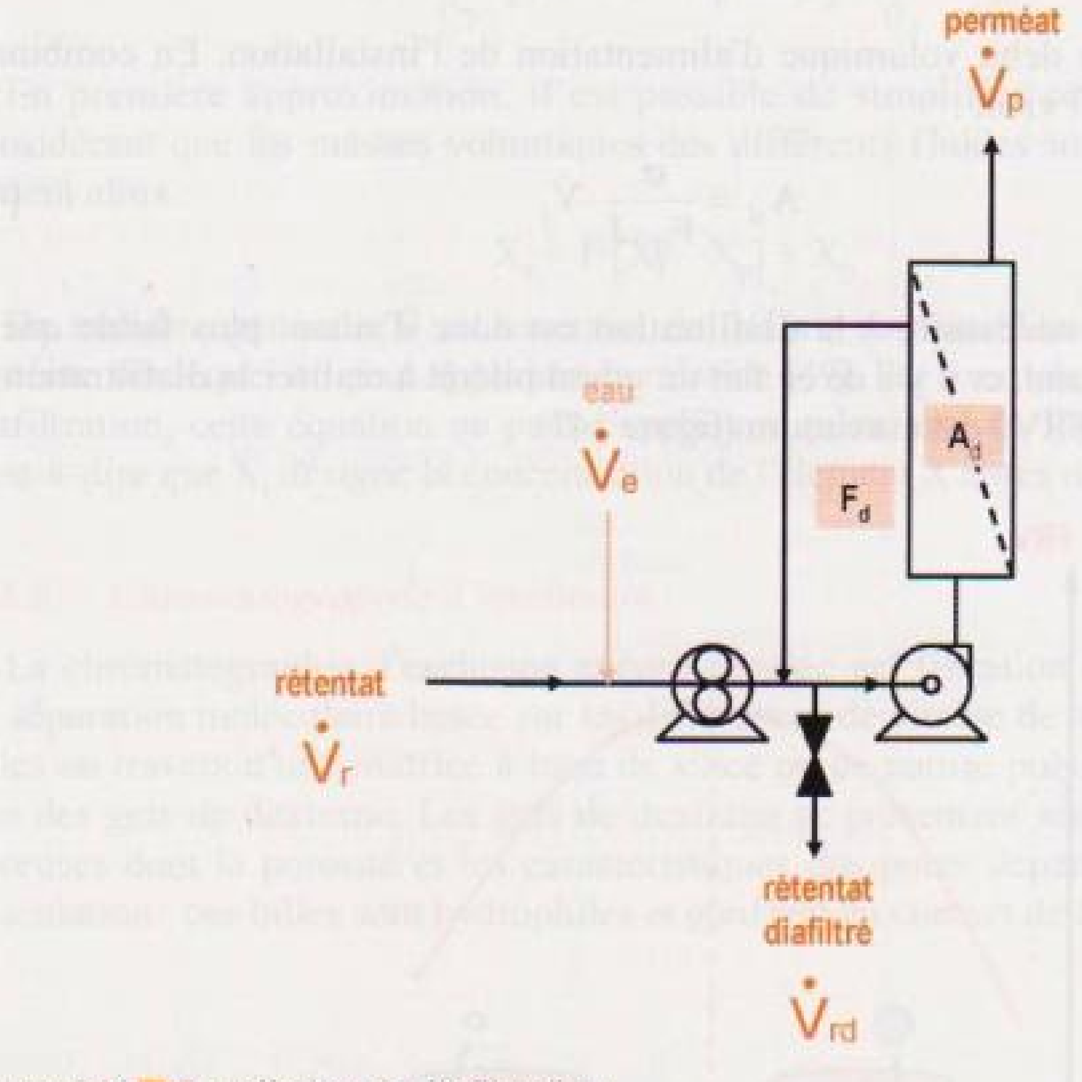


Figure 146 ■ Installation de diafiltration.

Pour simplifier le calcul, considérons qu'on ne réalise pas de concentration à l'étage auquel se déroule la diafiltration : dans ce cas, le débit volumique d'alimentation $\dot{V}_r$ de cet étage est égal à celui du rétentat diafiltré $\dot{V}_{rd}$ et le débit volumique d'eau $\dot{V}_e$ à celui de perméat $\dot{V}_p$:

$$\begin{cases} \dot{V}_r = \dot{V}_{rd} \\ \dot{V}_p = \dot{V}_e \end{cases} \qquad [44]$$

Soient :

– $\alpha = \frac{\dot{V}_e}{\dot{V}_r}$ le rapport de diafiltration ;

– J la densité de flux de perméation ($m \cdot s^{-1}$) ;

– A_d la surface de membrane nécessaire à la diafiltration ;

– F_d le facteur de réduction volumique auquel se déroule la diafiltration.

On peut écrire :

$$\dot{V}_p = A_d \cdot J \quad [45]$$

Et :

$$F_d = \frac{\dot{V}_l}{\dot{V}_r} = \alpha \cdot \frac{\dot{V}_l}{\dot{V}_e} \quad [46]$$

où $\dot{V}_l$ désigne le débit volumique d'alimentation de l'installation. En combinant [44], [45] et [46], il vient :

$$A_d = \frac{\alpha}{F_d \cdot J} \cdot \dot{V}_l \quad [47]$$

La surface A_d nécessaire à la diafiltration est donc d'autant plus faible que le produit $F_d \cdot J$ est grand, et il y a de ce fait un grand intérêt à réaliser la diafiltration au FRV pour lequel FRV·J est maximum (figure 147).

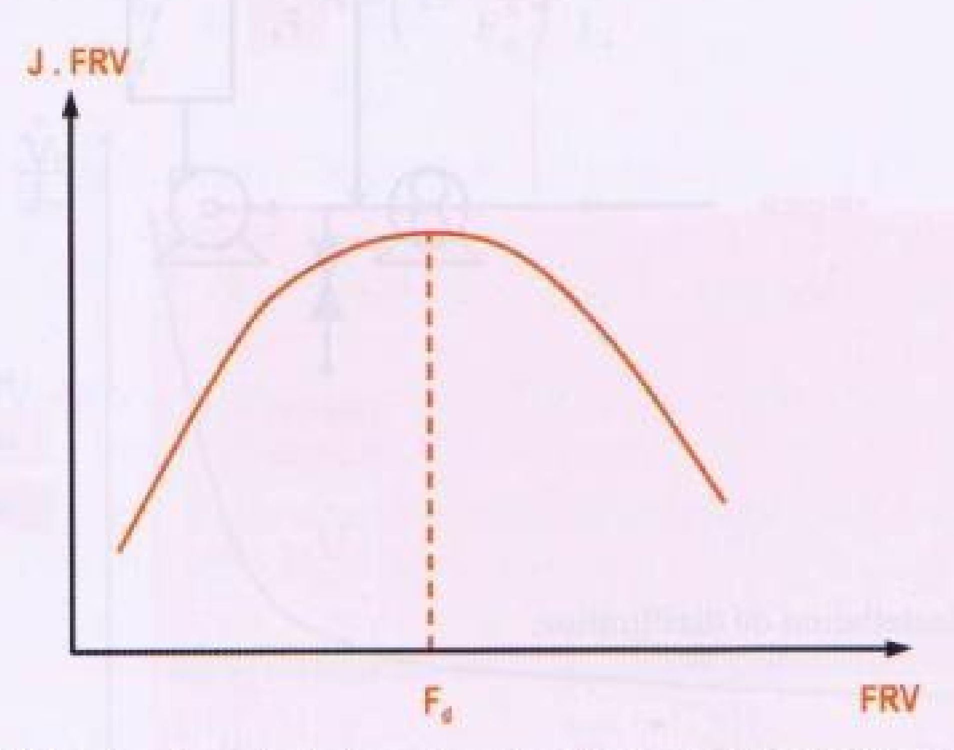


Figure 147 ■ Détermination du facteur de réduction volumique optimal en vue d'une diafiltration.

2.2.1.4. Composition des fractions

La composition des concentrés obtenus peut être déterminée à partir d'un bilan matière. Soient :

– F le facteur de réduction volumique ;

– X_l, X_r, X_p les concentrations en un ou ensemble d'éléments (en $g \cdot kg^{-1}$) du liquide traité, rétentat et perméat obtenus ;

– $\dot{V}_l$, $\dot{V}_r$ et $\dot{V}_p$ et ρ_l, ρ_r et ρ_p les débits volumiques ($m^3 \cdot s^{-1}$) et masses volumiques ($kg \cdot m^{-3}$) d'alimentation, de rétentat et perméat obtenus.

Le bilan de matière s'écrit pour le constituant X :

$$\rho_1 \cdot \dot{V}_1 \cdot X_1 = \rho_r \cdot \dot{V}_r \cdot X_r + \rho_p \cdot \dot{V}_p \cdot X_p \quad [48]$$

Sachant que $\dot{V}_p = \dot{V}_1 - \dot{V}_r$, on obtient :

$$\rho_1 \cdot \dot{V}_1 \cdot X_1 = \rho_r \cdot \dot{V}_r \cdot X_r + \rho_p \cdot \left[\dot{V}_1 - \dot{V}_r\right] \cdot X_p$$

Qui conduit à :

$$X_r = \frac{F}{\rho_r} \cdot \left[\rho_1 \cdot X_1 - \rho_p \cdot X_p\right] + \frac{\rho_p}{\rho_r} \cdot X_p \quad [49]$$

En première approximation, il est possible de simplifier cette expression en considérant que les masses volumiques des différents fluides sont les mêmes. On obtient alors :

$$X_r = F \cdot [X_1 - X_p] + X_p$$

De manière générale, il est essentiel de définir convenablement les limites du système sur lequel on peut appliquer la relation [49]. Par exemple, dans le cas de la diafiltration, cette équation ne peut s'appliquer qu'en aval de l'introduction d'eau, c'est-à-dire que X_1 désigne la concentration de l'élément X après dilution.

2.2.2. Chromatographie d'exclusion

La chromatographie d'exclusion encore appelée gel filtration est une technique de séparation moléculaire basée sur les différences de vitesse de transfert des molécules au travers d'une matrice à base de silice ou de nature polysaccharidique tels que des gels de dextrane. Les gels de dextrane se présentent sous forme de billes poreuses dont la porosité et les caractéristiques des pores dépendent du degré de réticulation ; ces billes sont hydrophiles et gonflent au contact de l'eau.

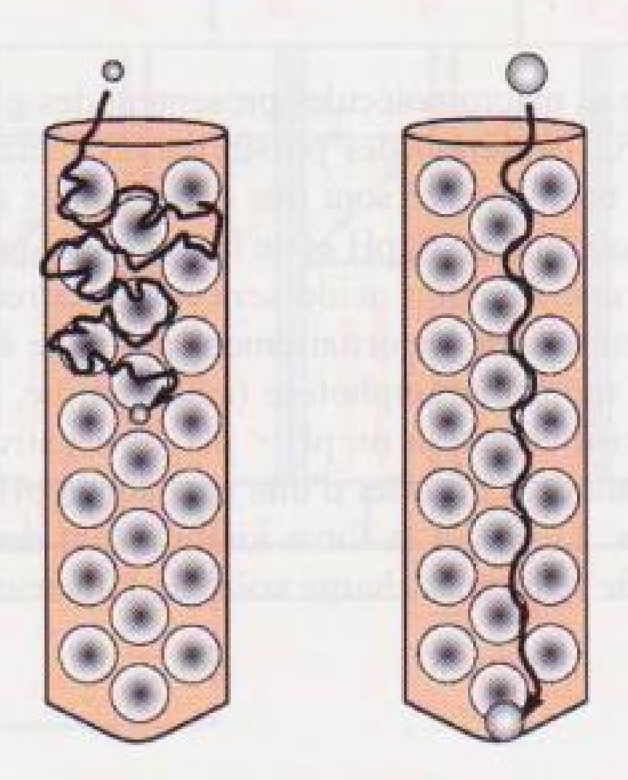


Figure 148 ■ Principe de la chromatographie d'exclusion : trajet et vitesse de transfert de petites et de grosses molécules.

Le principe de la séparation est illustré figure 148 ; les petites molécules peuvent pénétrer à l'intérieur des billes car leur diamètre est inférieur à celui des pores de la matrice alors que les grosses en sont exclues ; les grosses particules ayant en conséquence un trajet plus court sont éluées avant les petites molécules. Le volume d'élution varie avec le poids moléculaire (figure 149).

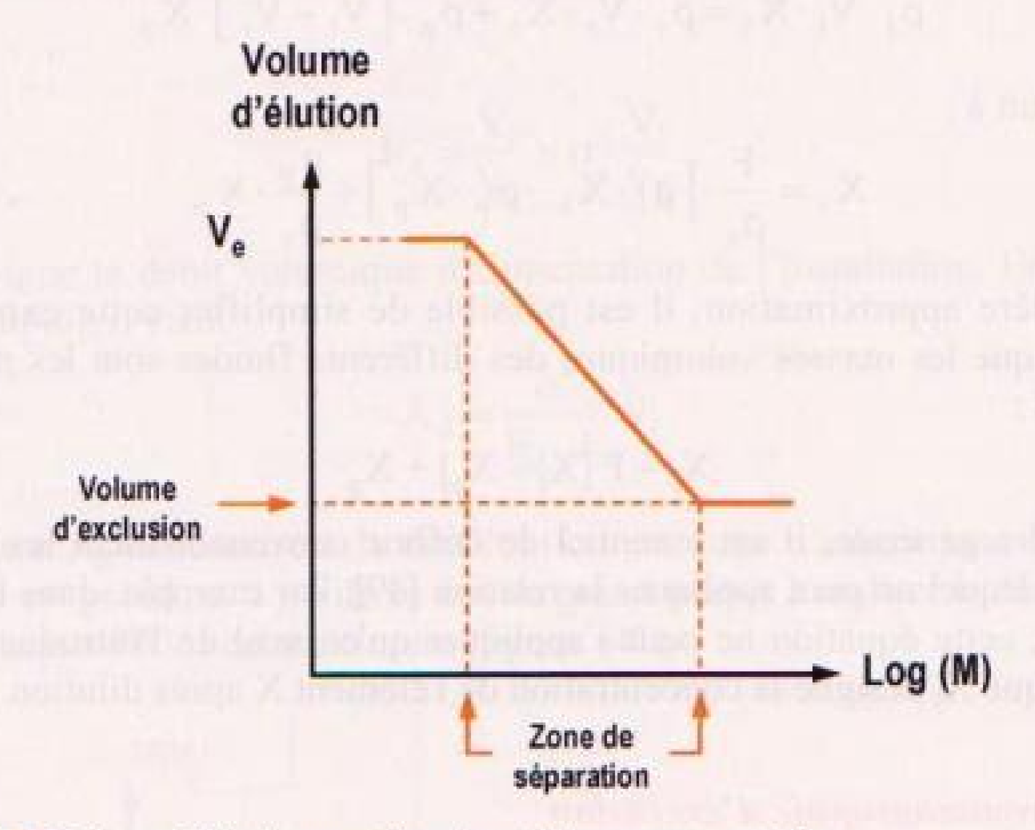


Figure 149 ■ Volume d'élution en fonction de la masse molaire.

3. Séparation moléculaire de nature ionique

3.1. Influence des caractéristiques physico-chimiques du solvant sur la charge

De nombreux solutés et macromolécules présentent des groupements cationiques et/ou anioniques qui leur confèrent des possibilités d'interactions électrostatiques. La nature de la charge et sa densité sont très dépendantes des conditions physico-chimiques du milieu, notamment du pH et de la force ionique. Comme nous l'avons décrit précédemment, une fonction acide sera majoritairement ionisée à des pH $> pK_a$, une fonction amine sera majoritairement protonée et chargée positivement à un pH $< pK_b$ et une molécule amphotère (acide aminé, peptide, protéine) sera globalement chargée positivement à un pH $< pH_i$ et négativement à un pH $> pH_i$; par ailleurs, la force ionique a un effet d'une part sur le pH_i et d'autre part sur les liaisons électrostatiques. Le pH et la force ionique sont deux paramètres qui permettent d'accroître ou de réduire la charge voire de l'inverser dans le cas des molécules amphotères.

3.2. Procédés de séparation

3.2.1. Électrodialyse

L'électrodialyse est un procédé électrochimique qui permet d'extraire les espèces ioniques contenues dans une solution ; l'extraction se fait par transfert des ions au travers de membranes permsélectives sous l'action d'un champ électrique. Les membranes mises en œuvre sont alternativement anioniques (M_A, chargée positivement) et cationiques (M_C, chargée négativement) ; un compartiment d'électrodialyse est défini par deux membranes, une anionique et une cationique, perpendiculaires au champ électrique (figure 150). Les cations C^+ de la solution ionique à traiter sont entraînés par le champ électrique du compartiment de dilution vers la cathode : ils traversent la membrane cationique mais sont bloqués dans le compartiment adjacent (compartiment d'extraction ou d'accumulation) car ils sont repoussés par la membrane anionique ; les anions A^- migrant dans l'autre sens vers l'anode traversent les membranes anioniques et sont repoussés par les membranes cationiques. Les anions et cations extraits dans les compartiments d'accumulation constituent une saumure. Un électrodialyseur peut compter jusqu'à 1 000 compartiments de dilution et d'accumulation des ions.

Seules les espèces ioniques sont extraites mais le niveau d'extraction dépend de la mobilité ionique et de la taille des molécules : le rendement d'extraction des cations et anions de nature minérale est très élevé, mais il dépend de la taille des molécules en ce qui concerne les ions de nature organique.

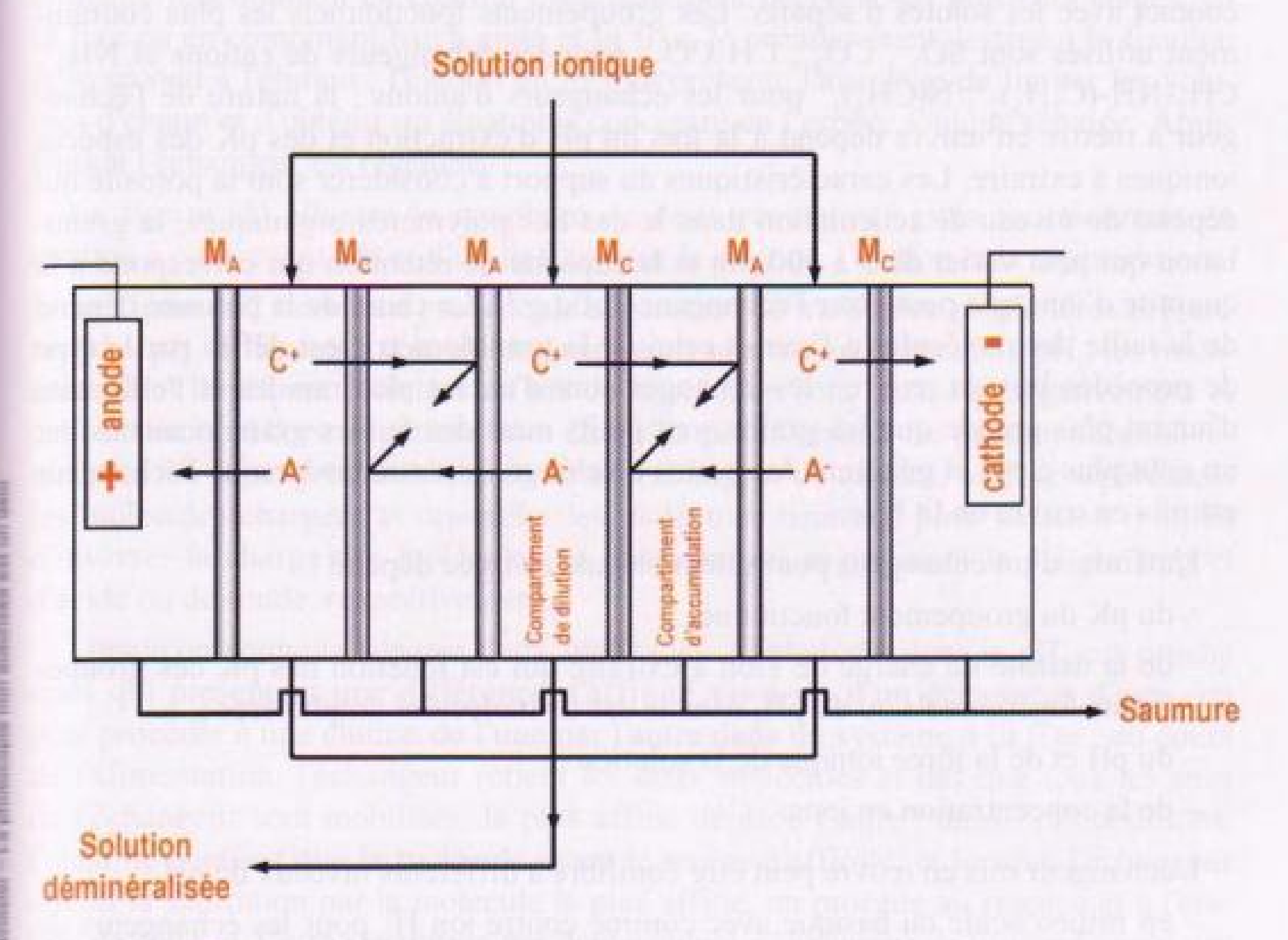


Figure 150 ■ Principe de l'électrodialyse.

Dans le cas où les solutions contiennent des macromolécules chargées, il y a accumulation des macromolécules à la surface des membranes de charge opposée. En outre la déminéralisation entraîne une réduction locale de la force ionique de la solution (phénomène de polarisation primaire dans la couche limite à la membrane) qui peut parfois induire du fait des variations de courant et de pH associées une précipitation de sels inorganiques ou de macromolécules au niveau de la membrane (phénomène de polarisation secondaire) ; il est donc fortement conseillé de limiter le niveau de déminéralisation afin d'une part d'éviter ces facteurs limitants et d'autre part de ne pas trop accroître la résistance ohmique du système qui se traduit par une augmentation du coût énergétique.

Cette technique est très appropriée pour déminéraliser partiellement des solutions protéiques, pour extraire des acides aminés, des acides organiques (lactique, tartrique, malique, etc.). Elle est utilisée industriellement pour la déminéralisation du lactosérum et du babeurre, mais aussi du jus de raisin et du vin blanc (désacidification et élimination du tartrate de potassium).

3.2.2. Chromatographie d'échange d'ions

Des matrices de nature organique (polystyrène, cellulose, dextran) ou de nature minérale (silice) sur lesquelles sont greffés de façon covalente des groupements fonctionnels chargés positivement ou négativement peuvent être mises en œuvre pour l'extraction de molécules chargées. Ces matrices que l'on qualifie d'échangeurs ioniques sont insolubles dans l'eau et donc faciles à récupérer après la mise en contact avec les solutés à séparer. Les groupements fonctionnels les plus couramment utilisés sont SO_3^-, CO_2^-, $CH_2CO_2^-$ pour les échangeurs de cations et NH_3^+, $CH_2\text{-}NH\text{-}(C_2H_5)_2^+$, $N(CH_3)_3^+$ pour les échangeurs d'anions ; la nature de l'échangeur à mettre en œuvre dépend à la fois du pH d'extraction et des pK des espèces ioniques à extraire. Les caractéristiques du support à considérer sont la porosité qui dépend du niveau de réticulation dans le cas des polymères organiques, la granulation qui peut varier de 5 à 500 µm et la capacité de rétention qui correspond à la quantité d'ions que peut fixer l'échangeur ($mEq{\cdot}g^{-1}$). Le choix de la porosité dépend de la taille des molécules à fixer et celui de la granulométrie est défini par le type de procédés mis en œuvre ; les échanges sont d'autant plus rapides et l'efficacité d'autant plus grande que les grains sont petits mais des faibles granulométries ont un coût plus élevé et génèrent des pertes de charge importantes lorsque l'échangeur est mis en œuvre en lit fixe.

L'affinité d'un échangeur pour une molécule chargée dépend :
- du pK du groupement fonctionnel ;
- de la densité de charge de l'ion à extraire qui est fonction des pK des groupements fonctionnels ou du pH_i dans le cas de molécules amphotères ;
- du pH et de la force ionique de la solution ;
- de la concentration en ions.

L'échangeur mis en œuvre peut être équilibré à différents niveaux de pH :

– en milieu acide ou basique avec comme contre ion H^+ pour les échangeurs de cations et OH^- pour les échangeurs d'anions ;

– en milieu neutre avec K^+, Na^+ pour des échangeurs de cations et Cl^- pour des échangeurs d'anions.

La réaction d'échange dans le cas d'un échangeur de cations peut s'écrire ainsi :

$$\begin{array}{c} R - B^+ + A^+ \leftrightarrow R - A^+ + B^+ \\ [B_R]\,[A_S] \quad\quad [A_R]\,[B_S] \end{array} \qquad [50]$$

La constante de sélectivité K_B^A (sans dimensions) est donnée par la relation :

$$K_B^A = \frac{[A_R]\,.\,[B_S]}{[B_R]\cdot[A_S]} \qquad [51]$$

Si $K_B^A > 1$, l'échangeur a une affinité préférentielle pour A, et la fixation des ions est accrue si l'on recharge la solution en A_S au fur à mesure qu'il se fixe ; c'est pourquoi un fonctionnement à contre-courant est privilégié dans le cas d'un procédé semi-continu ou continu.

L'élution du soluté fixé sur l'échangeur peut se faire soit en modifiant le pH ou la force ionique de façon à réduire la densité de charge de l'ion immobilisé et/ou diminuer l'énergie des liaisons électrostatiques, soit en déplaçant l'ion par un autre à concentration plus forte (solution molaire élevée de NaCl) ou présentant une affinité plus grande pour l'échangeur.

Les échangeurs d'ions peuvent être mis en œuvre en batch agité, en batch agité alimenté fonctionnant en continu éventuellement découplé en plusieurs étages, en lit fixe ou en combinant batch agité et lit fixe, le premier étant destiné à la fixation et le second à l'élution ; l'élution en lit fixe présente l'avantage de limiter les volumes d'éluant et d'obtenir un éluat plus concentré en l'espèce ionique séparée. Après élution l'échangeur est régénéré.

La figure 151 illustre le couplage de deux réacteurs agités fonctionnant en continu à contre-courant et d'un lit fixe pour le rinçage, l'élution et la régénération.

La figure 152 décrit un procédé de séparation de molécules amphotères présentant des pH_i différents ; si le pH de la solution se situe entre les deux pH_i, les molécules dont le pH_i est inférieur au pH de la solution sont chargées négativement et celles dont le pHi est supérieur sont chargées positivement. En passant successivement sur un échangeur d'anions et sur un échangeur de cations, on fixe séparément les molécules chargées et on exclut les molécules neutres ; pour l'élution il suffit d'inverser la charge des molécules en abaissant ou augmentant le pH par apport d'acide ou de soude, respectivement.

Lorsqu'on souhaite séparer deux molécules amphotères dont le pH_i est proche mais qui présentent une différence d'affinité vis-à-vis d'un échangeur d'ions, on peut procéder à une élution de l'une par l'autre dans un système à lit fixe ; au cours de l'alimentation, l'échangeur retient les deux molécules et dès que tous les sites de l'échangeur sont mobilisés, la plus affine déplace l'autre ; dans ces conditions, l'éluat ne contient que la molécule ayant le moins d'affinité, et lorsque l'échangeur atteint la saturation par la molécule la plus affine, on procède au rinçage et à l'élution de celle-ci. Cette séparation par déplacement a l'avantage de limiter l'usage des éluants (chromatographie frontale).

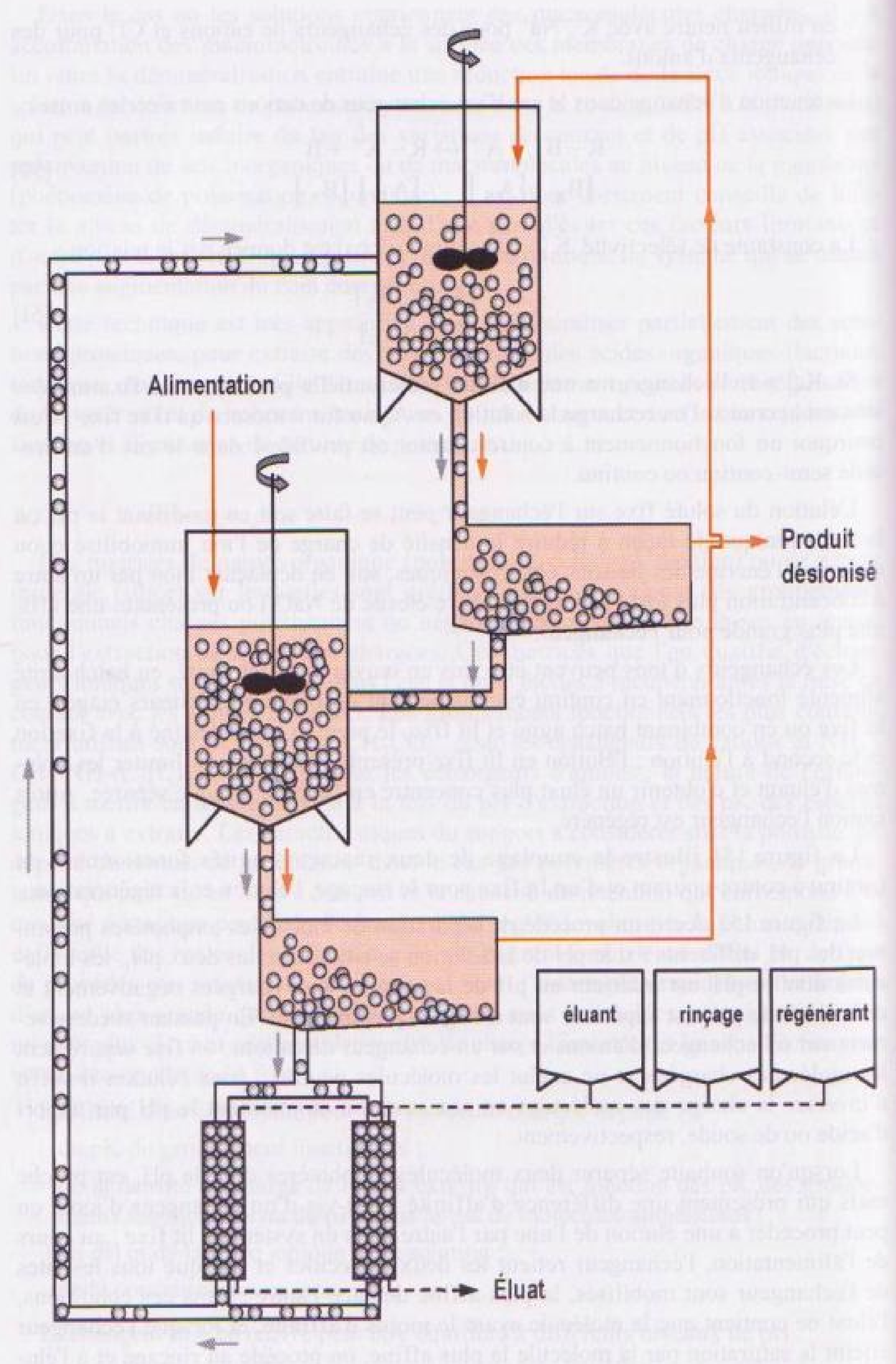


Figure 151 ■ Réacteurs agités continus (deux étages à contre-courant) couplés à un lit fixe pour l'élution. ➝ : transfert résine ; ➝ : transfert produit.

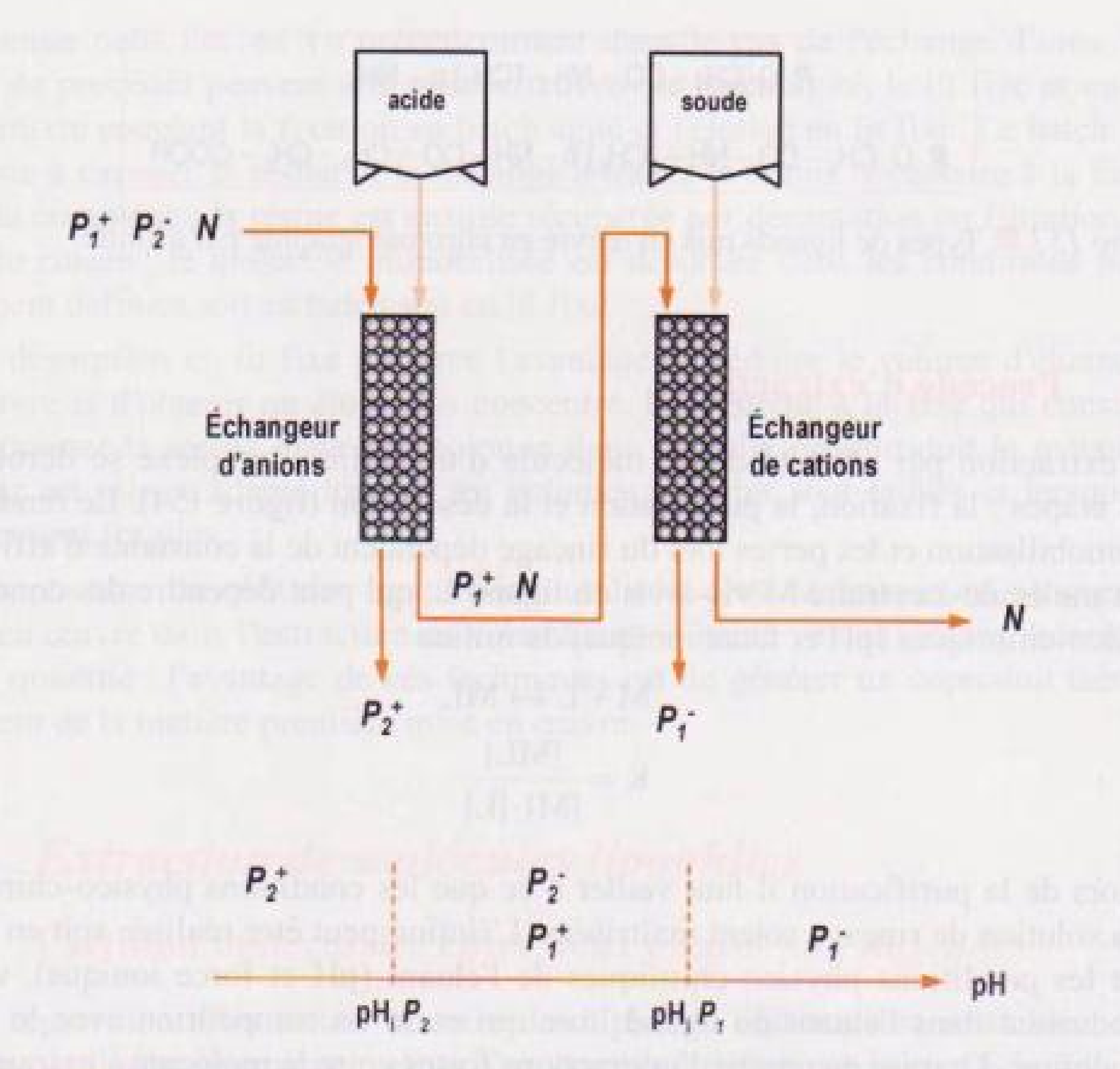


Figure 152 ■ Extraction de molécules amphotères (P_1 et P_2) de pH_i différents sur échangeurs d'anions et échangeur de cations couplés.

4. *Séparation moléculaire par affinité*

4.1. Immobilisation des ligands

Certaines molécules ont la propriété de se fixer de façon spécifique à un ligand ; ces ligands peuvent être des anticorps, des substrats d'enzyme, des glucosides, des éléments minéraux (minéraux de transition). On peut mettre cette propriété à contribution s'il est possible de fixer le ligand sur une matrice insoluble sans altérer ses propriétés d'affinité vis-à-vis de la ou des molécules que l'on cherche à isoler. Les matrices les plus couramment utilisées sont des résines qui doivent être inertes vis-à-vis des constituants du milieu. Lorsque le ligand ou les constituants à isoler sont des macromolécules dont les structures spatiales conditionnent leurs propriétés d'affinité, l'immobilisation sur le support peut générer des contraintes stériques qui empêchent la formation du complexe.

Il existe sur le marché des résines de couplage qui possèdent des groupements chimiques facilement activables, positionnés éventuellement à l'extrémité d'un bras écarteur plus ou moins long pour limiter les contraintes stériques et faciliter l'accès au ligand. Dans la plupart des cas, le ligand est immobilisé de façon covalente par interaction de groupements aminés et carboxyles (figure 153).

$$R\text{-}O\text{-}CH_2-CO-NH-(CH_2)\,n-NH_2$$

$$R\text{-}O\text{-}CH_2-CO-NH-(CH_2)\,n-NH-CO-CH_2-CH_2-COOH$$

Figure 153 ■ Types de ligands mis en œuvre en chromatographie par affinité.

4.2. Procédé d'extraction

L'extraction par affinité d'une molécule d'un milieu complexe se déroule en trois étapes : la fixation, la purification et la désorption (figure 154). Le rendement d'immobilisation et les pertes lors du rinçage dépendent de la constante d'affinité K de la molécule à extraire M vis-à-vis du ligand L, qui peut dépendre des conditions physico-chimiques (pH et force ionique) du milieu :

$$M + L \leftrightarrow ML$$

$$K = \frac{[ML]}{[M]\cdot[L]} \qquad [52]$$

Lors de la purification il faut veiller à ce que les conditions physico-chimiques de la solution de rinçage soient maîtrisées. L'élution peut être réalisée soit en modifiant les conditions physico-chimiques de l'éluant (pH et force ionique), soit en introduisant dans l'éluant du ligand libre qui entre en compétition avec le ligand immobilisé. La mise en œuvre d'interactions fortes entre la molécule à extraire et la résine peut impliquer des conditions d'élution drastiques et qui à l'extrême peuvent se traduire par la dénaturation de la molécule cible.

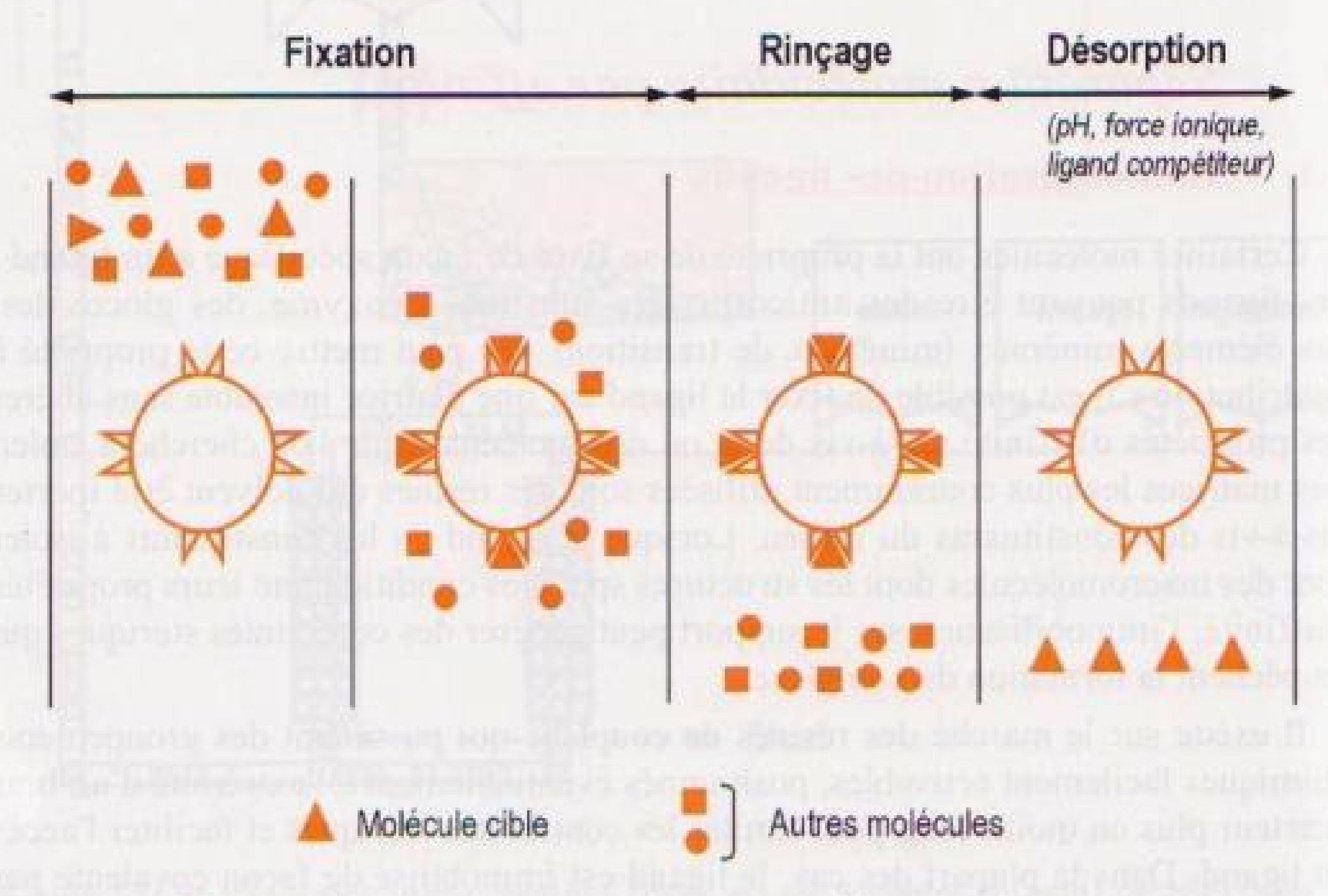


Figure 154 ■ Extraction par affinité de molécules en milieu complexe.

Comme nous l'avons vu précédemment dans le cas de l'échange d'ions, trois types de procédés peuvent être mis en œuvre : le batch agité, le lit fixe et un système mixte couplant la fixation en batch agité et l'élution en lit fixe. Le batch agité consiste à exposer la résine et le mélange à traiter le temps nécessaire à la formation du complexe ; la résine est ensuite récupérée par décantation ou filtration puis ensuite rincée ; la molécule immobilisée est désorbée dans les conditions précédemment définies soit en batch soit en lit fixe.

La désorption en lit fixe présente l'avantage de réduire le volume d'éluant mis en œuvre et d'obtenir un éluat plus concentré. Le système à lit fixe qui consiste à conditionner la résine dans une colonne dans laquelle on introduit le mélange à séparer est mieux adapté lorsque les volumes à traiter sont faibles et lorsque les résines sont fragiles.

Compte tenu du coût des ligands immobilisés, cette technique est uniquement mise en œuvre dans l'extraction de constituants à haute valeur ajoutée présents en faible quantité ; l'avantage de ces techniques est de générer un coproduit très peu différent de la matière première mise en œuvre.

5. *Extraction de molécules lipophiles*

5.1. Partition moléculaire entre deux phases non miscibles

La répartition d'un soluté A entre deux phases liquides non miscibles, l'une aqueuse et l'autre organique, relève d'un équilibre défini par le coefficient de partage K (sans dimensions) :

$$A_{aq} \leftrightarrow A_{org}$$

$$K = \frac{a_{A_{org}}}{a_{A_{aq}}} \qquad [53]$$

où a_{Aorg} et a_{Aaq} désignent respectivement les activités de A dans les phases organique et aqueuse. Dans le cas de solutions diluées et de molécules non chargées, on peut assimiler activité et concentration et exprimer K en fonction de la concentration (C_{Aorg} et C_{Aaq}) ou de la masse (m_{Aorg} et m_{Aaq}) du soluté A dans chacune des phases :

$$K = \frac{C_{A_{org}}}{C_{A_{aq}}} = \frac{m_{A_{org}}}{V_{org}} \cdot \frac{V_{aq}}{m_{A_{aq}}} \qquad [54]$$

où V_{org} et V_{aq} désignent respectivement les volumes des phases organique et aqueuse. La masse totale de soluté étant constante, on peut écrire :

$$m_{A_{org}} + m_{A_{aq}} = m_0$$

La masse résiduelle de soluté dans la phase aqueuse est alors :

$$m_{A_{aq}} = \frac{m_0 \cdot V_{aq}}{K \cdot V_{org} + V_{aq}} \qquad [55]$$

L'épuisement en soluté sera d'autant plus élevé que le volume de solvant sera fractionné de façon à réaliser plusieurs extractions successives. À titre d'exemple, pour :

$$K = 10$$
$$V_{org} = 0{,}2 \cdot V_{aq}$$

La masse résiduelle de soluté est $m_{A_{aq}} = \dfrac{m_0}{3}$.

Si on réalise deux extractions successives avec un volume de solvant $V_{org} = 0{,}1 \cdot V_{aq}$, la masse résiduelle à la première extraction est $m_{A_{aq}1} = \dfrac{m_0}{2}$, et à la seconde extraction $m_{A_{aq}2} = \dfrac{m_0}{4}$.

La figure 155 illustre une extraction par solvant avec recyclage du solvant par distillation.

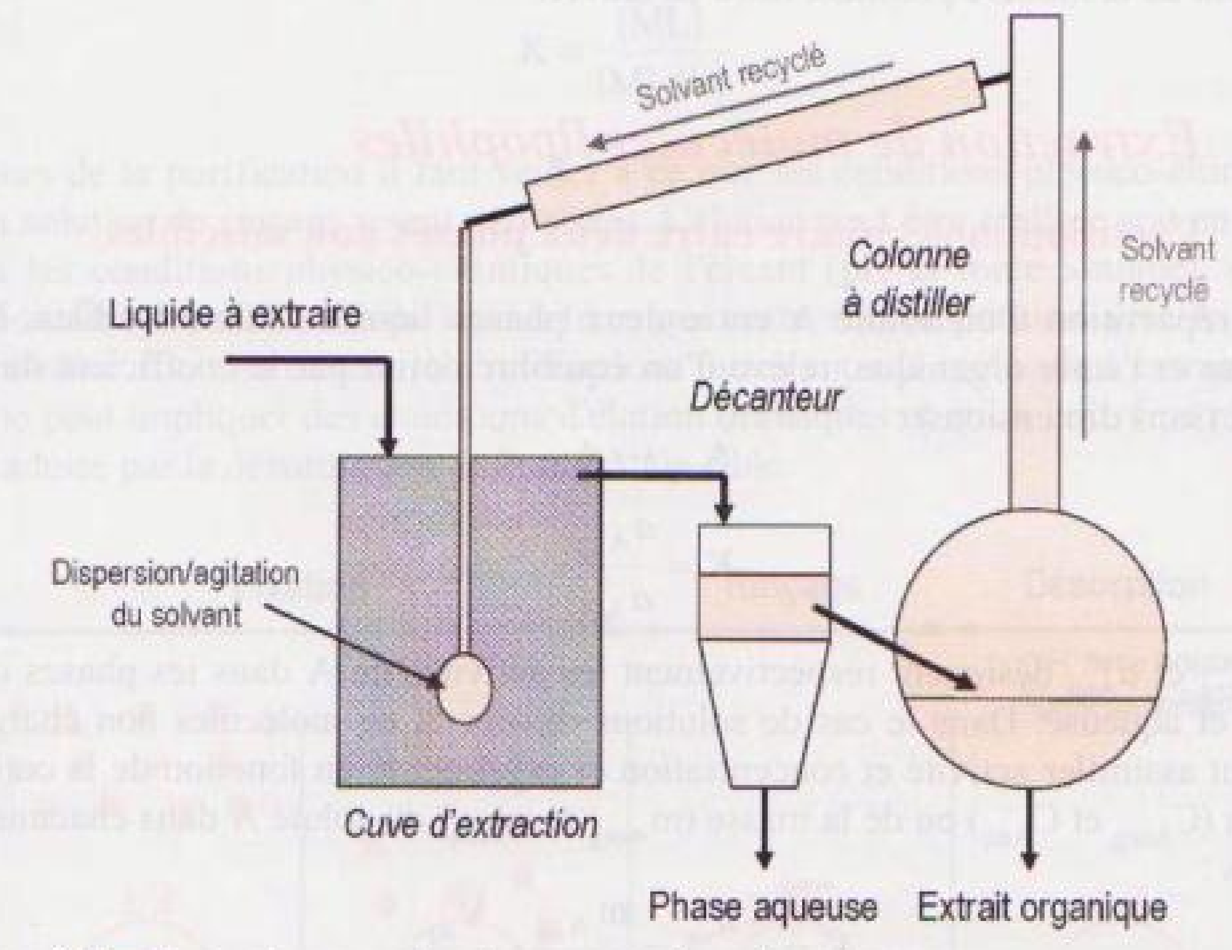


Figure 155 ■ Extraction par solvant avec recyclage du solvant.

L'extraction peut se faire en plusieurs étages fonctionnant à contre-courant (figure 156) ce qui permet un meilleur rendement d'extraction.

Les solvants organiques posent parfois des problèmes de sécurité et de toxicité. Le CO_2 supercritique est un solvant qui présente de nombreux avantages mais dont l'emploi reste pour l'instant limité de par son coût. Il présente l'avantage de posséder une masse volumique et donc un pouvoir solvant proche du CO_2 liquide couplé à une diffusivité et donc un pouvoir de pénétration dans des matrices proches du CO_2 gazeux ; l'élimination du CO_2 se fait par simple détente et son recyclage à l'état supercritique par recompression (figure 157).

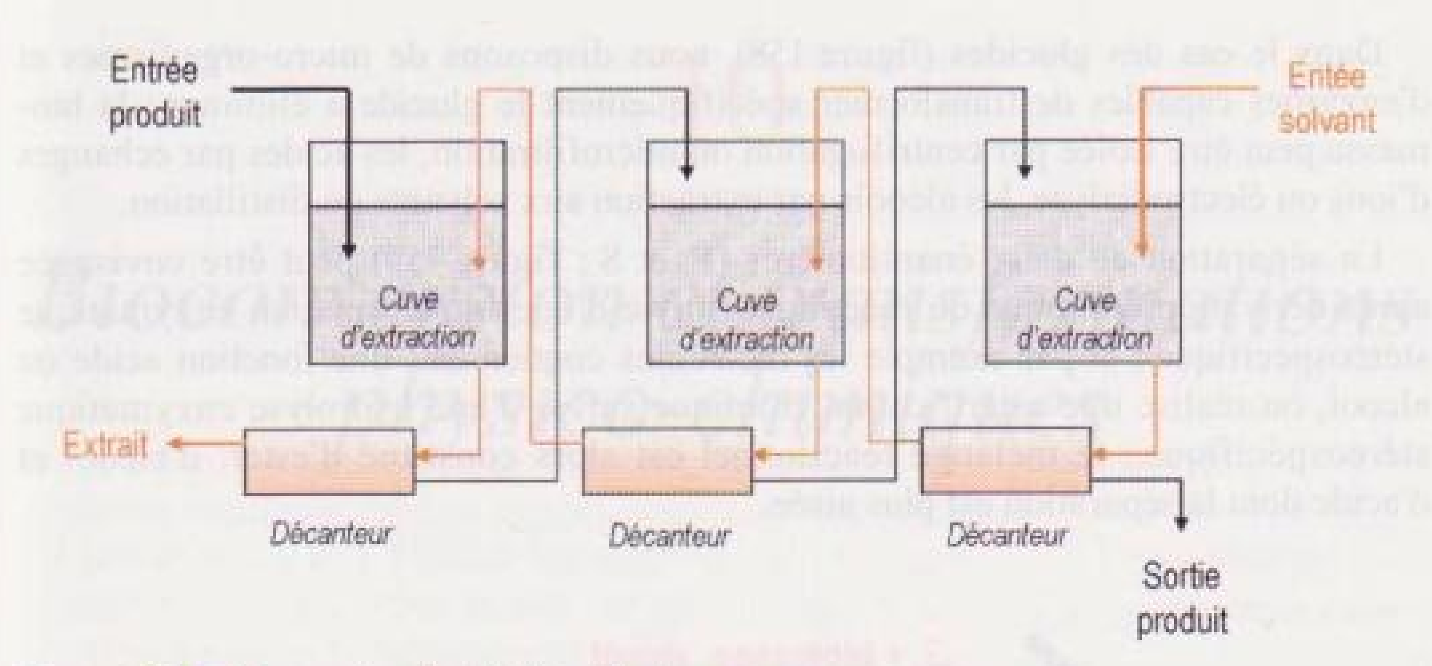


Figure 156 ■ Extraction liquide/liquide à contre courant.

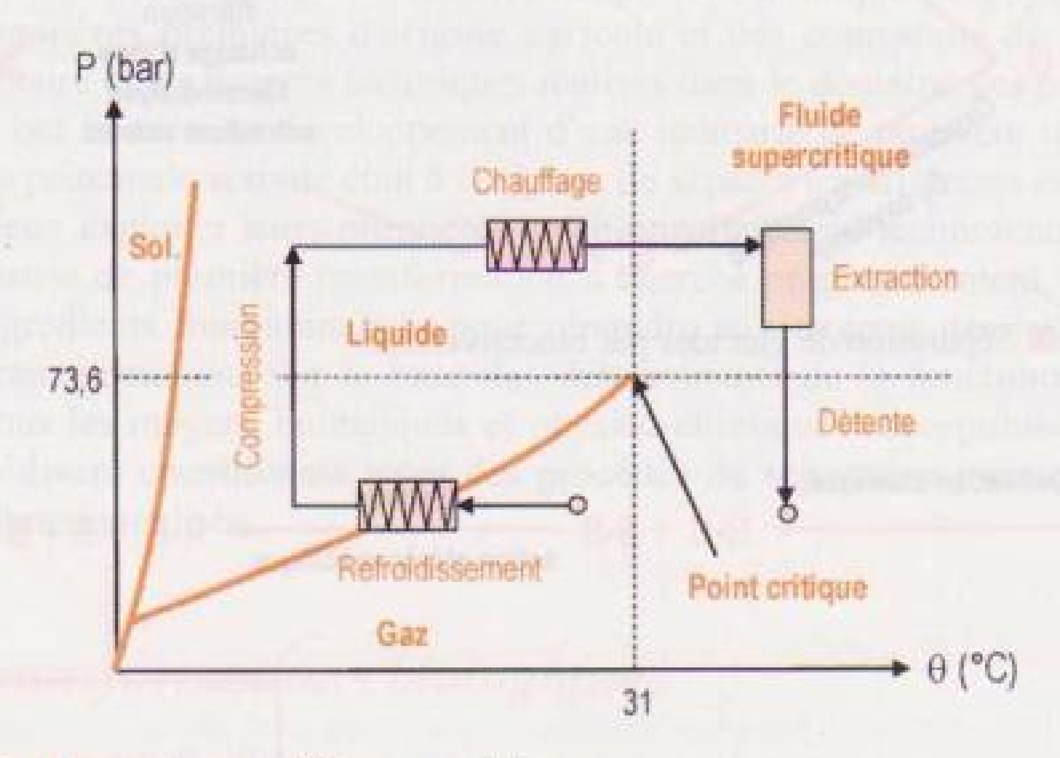


Figure 157 ■ Extraction par CO_2 supercritique.

6. Séparation après bioconversion des molécules à éliminer

Lorsque les procédés ne permettent pas de séparer deux molécules dont les propriétés physico-chimiques sont très proches, on peut envisager dans certains cas une transformation biologique de la molécule à éliminer ; nous avons cité précédemment (cf. § 2.1.) l'hydrolyse enzymatique des protéines ou des polysaccharides lorsque l'on cherche à purifier l'un ou l'autre de ces constituants en présence par des techniques d'ultrafiltration ou de chromatographie d'exclusion. Pour illustrer cette démarche nous pouvons prendre deux autres exemples : la séparation de deux glucides (G_1 et G_2) et celle de deux énantiomères à partir d'un racémique.

Dans le cas des glucides (figure 158), nous disposons de micro-organismes et d'enzymes capables de transformer spécifiquement le glucide à éliminer ; la biomasse peut être isolée par centrifugation ou microfiltration, les acides par échanges d'ions ou électrodialyse, les alcools par extraction aux solvants ou distillation.

La séparation de deux énantiomères (R et S ; figure 159) peut être envisagée après dérivation chimique du racémique suivie d'une transformation enzymatique stéréospécifique ; si par exemple les molécules contiennent une fonction acide ou alcool, on réalise une estérification chimique suivie d'une hydrolyse enzymatique stéréospécifique ; le mélange réactionnel est alors constitué d'ester, d'alcool et d'acide dont la séparation est plus aisée.

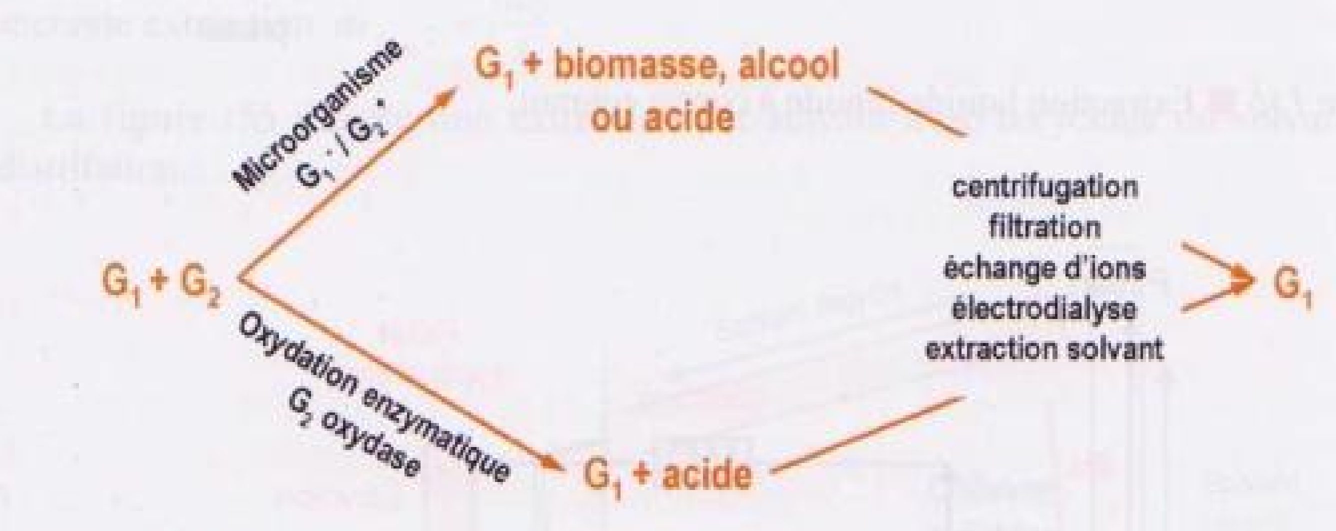


Figure 158 ■ Séparation de glucides par bioconversion.

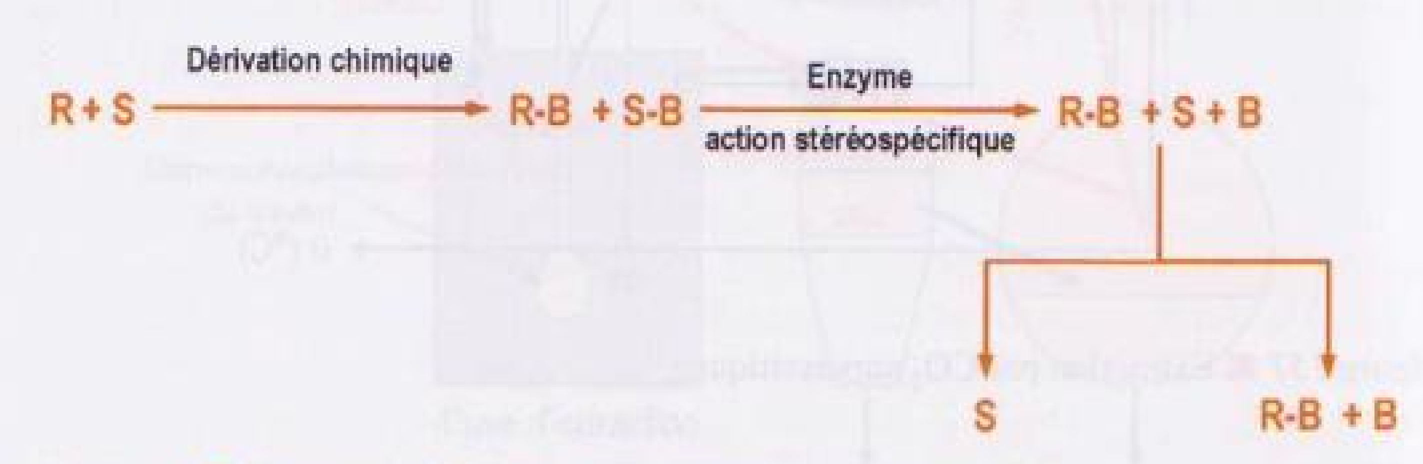


Figure 159 ■ Séparation de deux énantiomères par bioconversion.

10

Bioconversion et transformations physico-chimiques

La meilleure connaissance des caractéristiques biochimiques et physico-chimiques des matières premières d'origine agricole et des coproduits de l'industrie agroalimentaire et les progrès techniques réalisés dans le domaine des procédés de séparation ont favorisé le développement d'une industrie de première transformation dont la principale activité était à l'origine, de séparer les différents constituants afin de mieux exploiter leurs propriétés nutritionnelles et/ou technofonctionnelles. Cette industrie de première transformation a cherché progressivement à développer des ingrédients fonctionnalisés pour répondre aux attentes des industries de seconde transformation. Sur la base des déterminants de la fonctionnalité, elle mobilise tous les moyens biologiques et physico-chimiques susceptibles de transformer les divers constituants issus des procédés de séparation pour générer de nouvelles fonctionnalités.

1. Transformations biologiques

1.1. Agents biologiques

La bioconversion des constituants peut être réalisée à l'aide de micro-organismes ou d'enzymes. Les biotransformations mettent en œuvre des cellules entières si elles résultent de plusieurs réactions enzymatiques ou nécessitent la présence de cofacteurs coûteux ou difficiles à régénérer : c'est le cas des productions d'alcool, d'acides organiques, d'acides aminés ou de vitamines. En revanche, lorsque la transformation résulte de l'action d'une enzyme facile à produire, le choix s'orientera vers l'utilisation de celle-ci ; en effet ce type de biocatalyseur est de mise en œuvre plus simple que celle des cellules, qui par ailleurs exigent un apport énergétique plus important et conduisent à des produits plus complexes à purifier.

Nous disposons aujourd'hui d'un nombre considérable d'enzymes autorisées en technologie alimentaire : ces enzymes peuvent être d'origine animale (chymosine, pepsine, trypsine, chymotrypsine, lysozyme, etc.), végétale (papaïne, ficine, bromelaïne, amylases, lipoxygénase, etc.) et surtout microbienne. La part prépondérante des enzymes d'origine microbienne présentes sur le marché s'explique par

la grande régularité de l'approvisionnement, par des coûts de production faibles et par les possibilités croissantes d'amélioration génétique des souches productrices. De très nombreux micro-organismes sont autorisés pour la production d'enzymes ; parmi les genres microbiens les plus utilisés, on peut citer *Bacillus*, *Aspergillus*, *Saccharomyces* et *Kluyveromyces*. Parmi les enzymes les plus employées, on peut mentionner des hydrolases (protéases, lipases, amylases, lactases, invertases, pectinases, etc.), des isomérases (glucose isomérases) et des oxydases (glucose oxydases, lipoxygénases).

Les enzymes d'origine microbienne sont obtenues par fermentation ; les enzymes extracellulaires sont directement extraites du milieu de culture alors que les enzymes endocellulaires nécessitent une lyse cellulaire préalable. En ce qui concerne les préparations d'origine animale et végétale, les tissus sont soumis à des traitements physiques (broyage, pressage, sonication, cycle congélation-décongélation) ; la libération du contenu cellulaire peut être également favorisée par lyse chimique (pH, force ionique) ou enzymatique (lysozyme, pectinase, cellulase). La purification des enzymes fait ensuite appel à l'ensemble des techniques de fractionnement basées sur les différences de propriétés entre l'enzyme et les autres constituants du milieu comme nous l'avons vu dans le chapitre précédent (solubilité, masse molaire, charge électrique). Certaines techniques analytiques permettent d'évaluer le degré de pureté (électrophorèse, chromatographie) et l'activité des préparations (spectrophotométrie en conditions standardisées) ; les préparations sont souvent déshydratées par lyophilisation pour préserver leur activité. Le coût des préparations est très dépendant du niveau de pureté atteint : la présence, même en faible quantité, d'activité enzymatique autre que celle recherchée peut être problématique dans certaines applications.

1.2. Cinétiques de bioconversion

1.2.1. Cinétique microbienne

La croissance microbienne peut se décomposer en cinq phases représentées sur la figure 160 :

- phase de latence (1) : adaptation du métabolisme des micro-organismes aux conditions du milieu ;
- phase exponentielle de croissance (2) : conditions favorables à la croissance – pas de substrats limitants – pas d'inhibition par les métabolites ;
- phase de ralentissement (3) : conditions défavorables à la croissance – substrats et /ou facteurs de croissance limitants – inhibition par les métabolites ;
- phase stationnaire (4) : arrêt de la croissance ;
- phase de déclin (5) : décès cellulaire.

La vitesse de croissance microbienne v_x (g de biomasse·h^{-1}) est proportionnelle à la concentration cellulaire X (loi du premier ordre) :

$$v_x = \frac{dX}{dt} = \mu \cdot X \qquad [56]$$

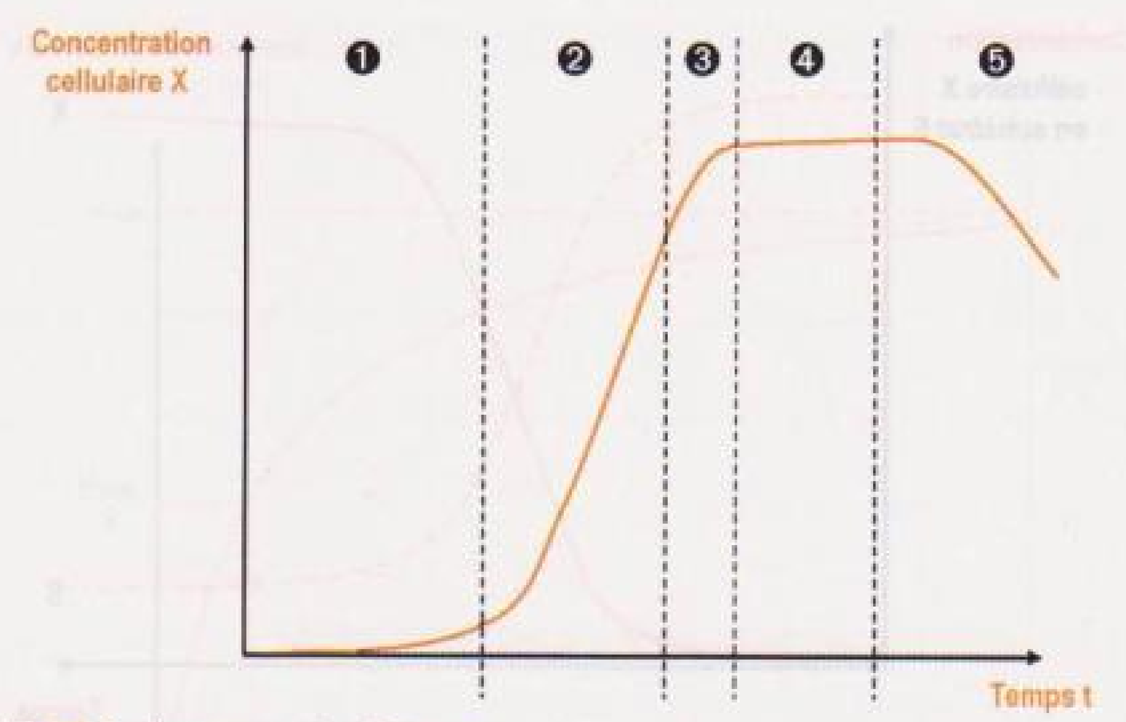


Figure 160 ■ Croissance microbienne.

μ est la vitesse de croissance spécifique (h^{-1}). L'intégration de cette équation entre un temps t_1 (population X_1) et t_2 (population X_2) conduit à :

$$\ln\left(\frac{X_2}{X_1}\right) = \mu \cdot (t_2 - t_1)$$

Soit :

$$X_2 = X_1 \cdot e^{\mu \cdot (t_2 - t_1)}$$

Le temps nécessaire pour doubler la population microbienne est appelé temps de génération t_D (h) :

$$t_D = \frac{\ln 2}{\mu} = \frac{0{,}69}{\mu} \qquad [57]$$

Ce temps de génération est de l'ordre de 0,3 h pour des bactéries, 1,5 h pour des levures et 3 h pour des champignons. La constante de vitesse μ diminue au fur et à mesure de la consommation du substrat (figure 161).

Le modèle de Monod définit l'influence de la concentration en substrat sur la vitesse de croissance spécifique (figure 162) :

$$\mu = \frac{\mu_{max} \cdot S}{K_S + S} \qquad [58]$$

où μ_{max} désigne la valeur asymptotique de la vitesse de croissance spécifique μ, et K_S est la constante de seuil ou de Monod, correspondant à la concentration en substrat pour laquelle $\mu = \frac{1}{2} \cdot \mu_{max}$. K_S s'exprime suivant l'unité de concentration mise en œuvre en $mol \cdot m^{-3}$ ou $kg \cdot m^{-3}$. En combinant [56] et [58], on obtient alors l'expression de la vitesse de production de biomasse :

$$v_x = \frac{\mu_{max} \cdot S}{K_S + S} \cdot X \qquad [59]$$

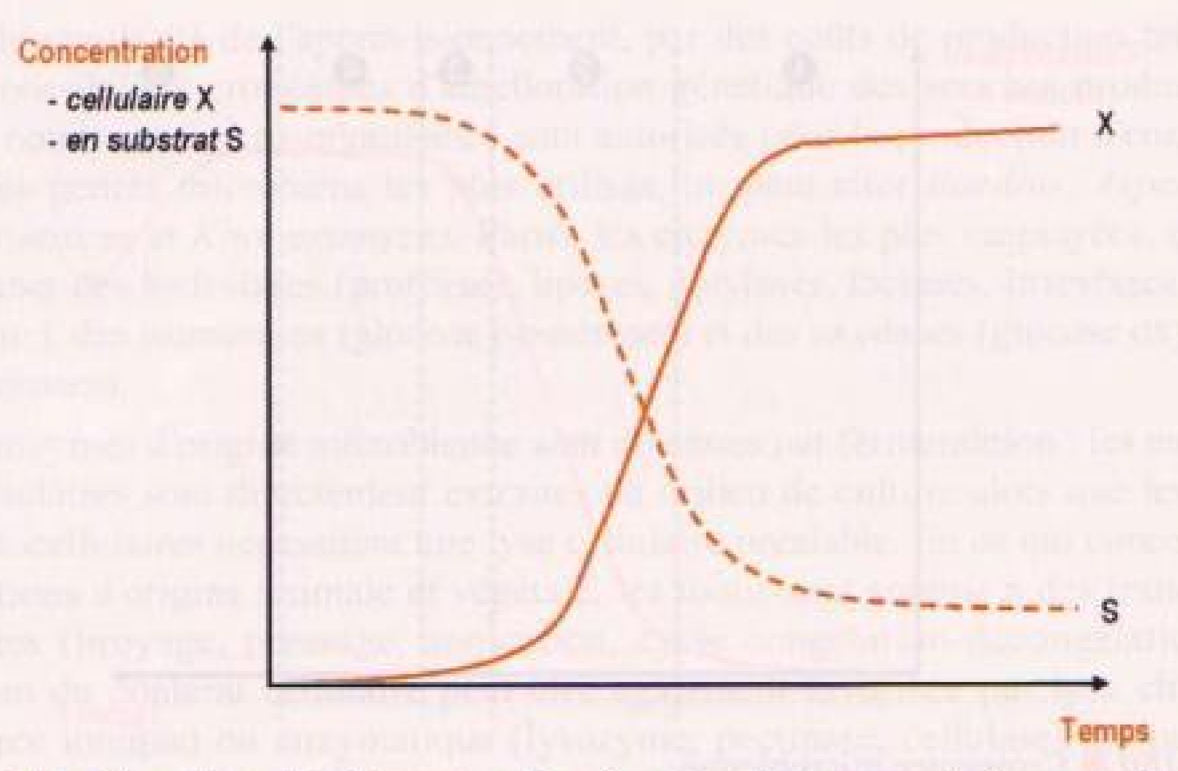


Figure 161 ■ Évolution de la biomasse X en fonction de la concentration en substrat S.

Ainsi :
– lorsque $S \gg K_S$:

$$v_x = \mu_{max} \cdot X$$

Cette relation correspond par conséquent à une loi cinétique d'ordre 0 par rapport au substrat et d'ordre 1 par rapport à la biomasse ;
– lorsque $S \ll K_S$:

$$v_x = \frac{\mu_{max}}{K_S} \cdot S \cdot X$$

Il s'agit alors d'une cinétique d'ordre 1 par rapport au substrat et à la biomasse.

Sachant que la concentration en substrat (S) décroît au fur et mesure que se forme la biomasse X, v_x passe donc par un maximum : en effet, en début de croissance ($S \gg K_S$), la vitesse augmente avec la biomasse ; en revanche lorsque S décroît et tend vers K_S, la vitesse spécifique diminue plus rapidement que n'augmente la biomasse et v_x diminue.

On peut exprimer la biomasse X en fonction de la quantité de substrat consommée $(S_0 - S)$ pour un rendement Ψ (g de biomasse·[g de substrat]$^{-1}$) :

$$X = X_0 + \Psi \cdot (S_0 - S)$$

X_0 et S_0 sont les concentrations initiales en biomasse et substrat. Cette relation permet de remanier l'expression de v_x en :

$$v_x = \frac{\mu_{max} \cdot S}{K_S + S} \cdot [X_0 + \psi \cdot (S_0 - S)] \qquad [60]$$

Pour trouver la valeur maximale de la vitesse, il suffit de dériver l'expression de v_x par rapport à S :

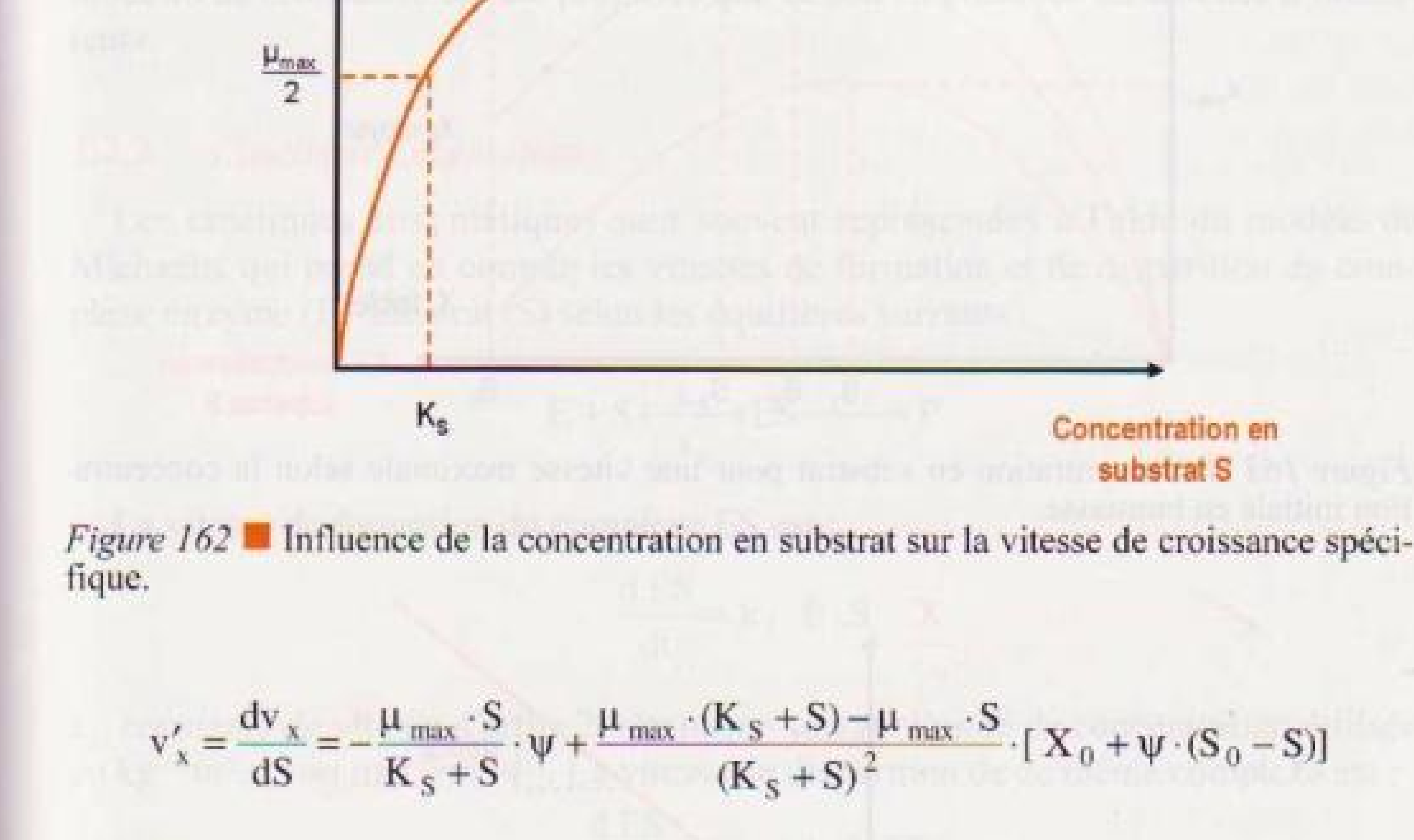


Figure 162 ■ Influence de la concentration en substrat sur la vitesse de croissance spécifique.

$$v'_x = \frac{dv_x}{dS} = -\frac{\mu_{max} \cdot S}{K_S + S} \cdot \psi + \frac{\mu_{max} \cdot (K_S + S) - \mu_{max} \cdot S}{(K_S + S)^2} \cdot [X_0 + \psi \cdot (S_0 - S)]$$

Soit :

$$v'_x = \mu_{max} \cdot \psi \cdot \frac{-S^2 - 2K_S \cdot S + K_S \cdot \frac{X_0}{\psi} + K_S \cdot S_0}{(K_S + S)^2} \quad [61]$$

Cette dérivée s'annule pour :

$$S = -K_S \pm \sqrt{K_S^2 + K_S \cdot \left(\frac{X_0}{\psi} + S_0\right)}$$

Dans le cas où $\frac{X_0}{\psi} << S_0$, les conditions sont donc optimales pour :

$$\frac{S}{K_S} = \sqrt{1 + \frac{S_0}{K_S}} - 1 \quad [62]$$

La vitesse maximale est donc dépendante de la concentration initiale en biomasse et substrat comme cela est représenté figure 163.

Les paramètres cinétiques peuvent être déterminés à partir de l'équation de Monod sous la forme linéaire (figure 164) :

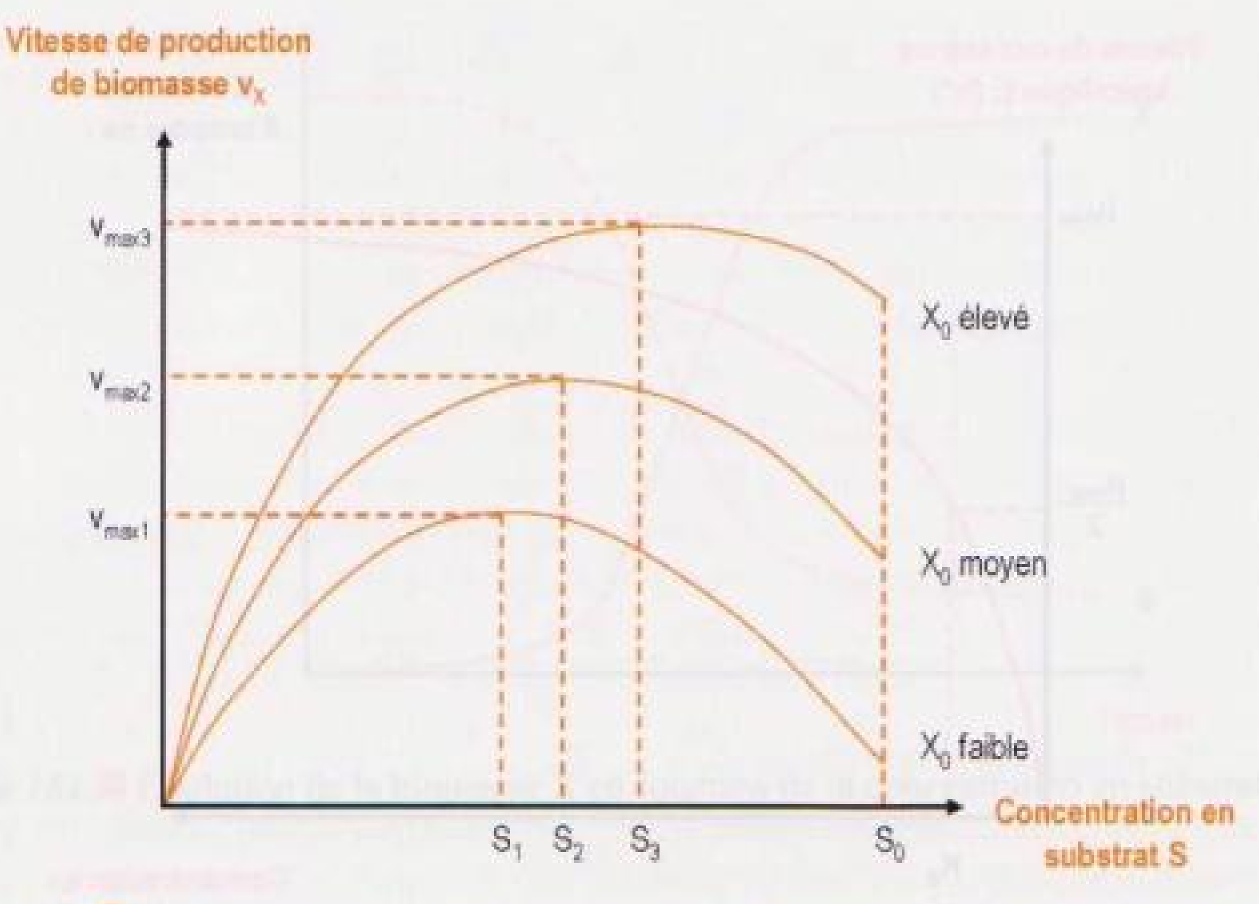


Figure 163 ■ Concentration en substrat pour une vitesse maximale selon la concentration initiale en biomasse.

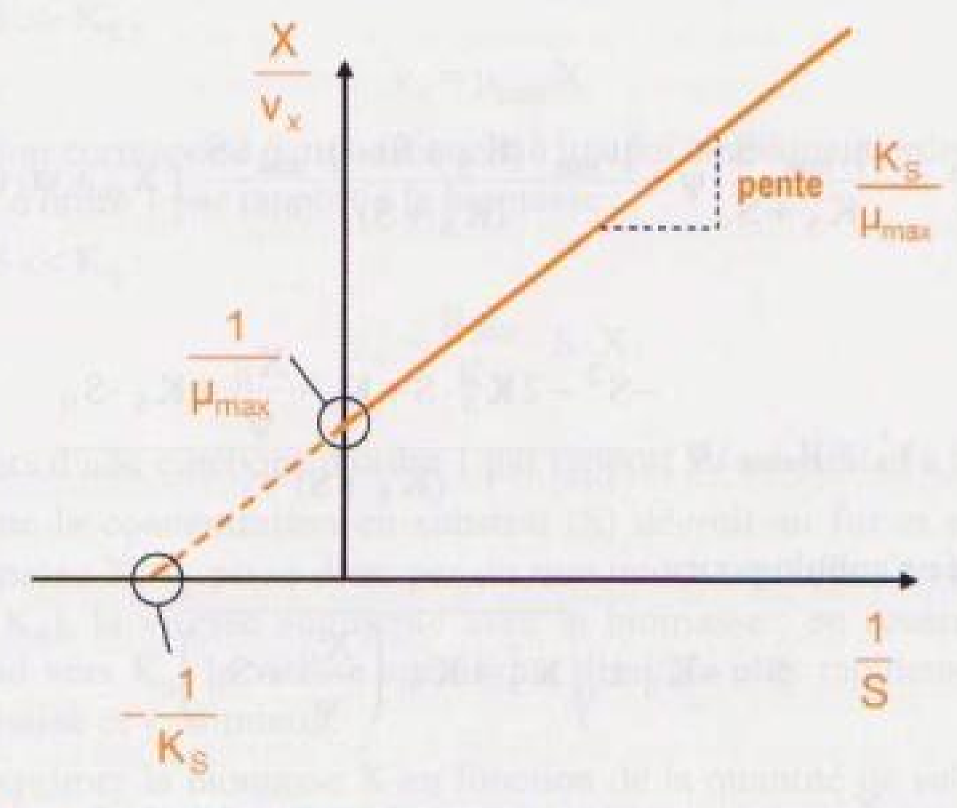
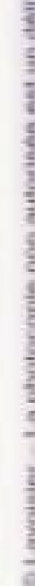


Figure 164 ■ Représentation linéaire de la loi de Monod.

$$\frac{X}{v_x} = \frac{K_S}{\mu_{max} \cdot S} + \frac{1}{\mu_{max}} \quad [63]$$

Dans le cas où deux substrats sont limitants, le modèle s'écrit :

$$\mu = \mu_{max} \cdot \left(\frac{S_1}{K_S + S_1} \right) \cdot \left(\frac{S_2}{K_S + S_2} \right) \quad [64]$$



Lorsqu'un métabolite P est inhibiteur :

$$\mu = \mu_{max} \cdot \left(\frac{S}{K_S + S} \right) \cdot \left(\frac{1}{1 + \frac{P}{K_P}} \right) \qquad [65]$$

P désigne la concentration du métabolite, et K_p la constante d'inhibition par celui-ci (qui s'exprime dans la même unité que la concentration P). De nombreux autres modèles de croissance ont été proposés que ce soit en présence ou absence d'inhibiteurs.

1.2.2. Cinétique enzymatique

Les cinétiques enzymatiques sont souvent représentées à l'aide du modèle de Michaélis qui prend en compte les vitesses de formation et de disparition du complexe enzyme (E)-substrat (S) selon les équilibres suivants :

$$E + S \underset{k_2}{\overset{k_1}{\longleftrightarrow}} ES \xrightarrow{k_3} P$$

La vitesse de formation du complexe ES est :

$$\frac{d\,ES}{dt} = k_1 \cdot E \cdot S$$

k_1, constante de vitesse d'ordre 2, s'exprime suivant l'unité de concentration utilisée en $kg^{-1} \cdot m^3 \cdot s^{-1}$ ou $mol^{-1} \cdot m^3 \cdot s^{-1}$. La vitesse de disparition de ce même complexe est :

$$-\frac{d\,ES}{dt} = (k_2 + k_3) \cdot ES$$

k_2 et k_3 sont des constantes de vitesse d'ordre 1 et s'expriment en s^{-1}. À l'état stationnaire :

$$k_1 \cdot E \cdot S - (k_2 + k_3) \cdot ES = 0 \qquad [66]$$

Si E_0 et E sont respectivement les concentrations initiales et à l'équilibre de l'enzyme, on peut écrire que :

$$E_0 = E + ES$$

En remplaçant E par $[E_0 - ES]$ dans l'équation [66], on obtient l'expression de la concentration en complexe ES :

$$ES = \frac{E_0 \cdot S}{\frac{k_2 + k_3}{k_1} + S} \qquad [67]$$

Le rapport des constantes de vitesse d'ordre 1 $(k_2 + k_3)$ et de la constante d'ordre 2 (k_1) est appelé constante de Michaelis K_m, qui a la dimension d'une concentration ($mol \cdot m^{-3}$ ou $kg \cdot m^{-3}$) :

$$\begin{cases} ES = \dfrac{E_0 \cdot S}{K_m + S} \\ K_m = \dfrac{k_2 + k_3}{k_1} \end{cases} \quad [68]$$

La vitesse de la réaction enzymatique v ($mol \cdot m^{-3} \cdot s^{-1}$ ou $kg \cdot m^{-3} \cdot s^{-1}$ suivant l'unité de concentration) peut s'exprimer selon la relation de Michaélis :

$$v = \frac{dP}{dt} = k_3 \cdot ES = k_3 \cdot \frac{E_0 \cdot S}{K_m + S} \quad [69]$$

La vitesse est maximale lorsque la totalité de l'enzyme se trouve sous forme de complexe, à savoir $E_0 = ES$:

$$v_{max} = k_3 \cdot E_0 \quad [70]$$

En combinant [69] et [70], on obtient :

$$v = \frac{v_{max} \cdot S}{K_m + S} \quad [71]$$

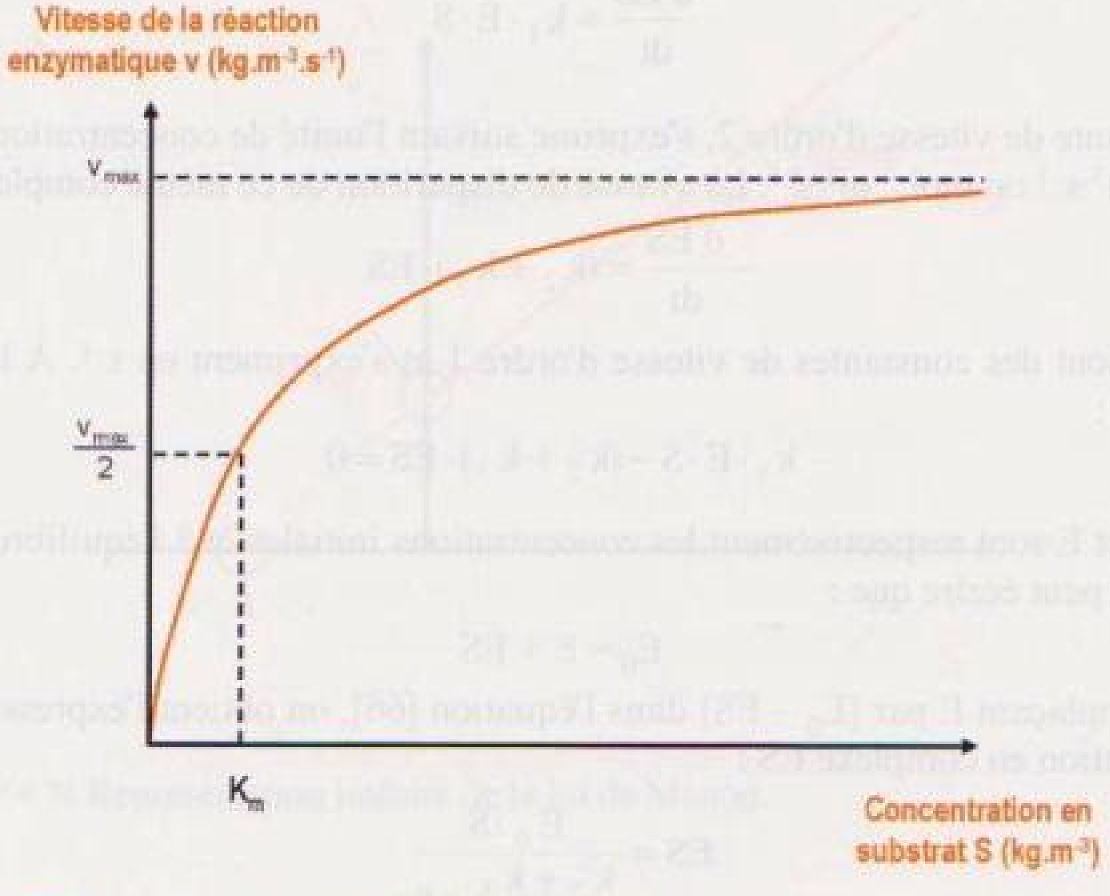


Figure 165 ■ Influence de la concentration en substrat sur la vitesse de réaction.

La constante de Michaélis K_m est l'équivalent de la concentration en substrat pour laquelle la vitesse $v = \frac{v_{max}}{2}$ (figure 165) ; elle est donc à rapprocher de celle de Monod relative à la vitesse de croissance microbienne spécifique vue précédemment (équation [58]) :

– si $S \gg K_m$:

$$v = k_3 \cdot E_0$$

Cette relation correspond par conséquent à une loi cinétique d'ordre 1 ;

– lorsque $S \ll K_m$:

$$v = k_3 \cdot \frac{E_0 \cdot S}{K_m}$$

La cinétique de la réaction suit alors une loi d'ordre 2.

La détermination des paramètres cinétiques (K_m et v_{max}) est réalisée à partir des valeurs des vitesses initiales à différentes concentrations en substrats ; elle est facilitée en utilisant une représentation linéaire du modèle de Michaelis qu'on obtient en représentant $\frac{1}{v}$ en fonction de $\frac{1}{S}$ (représentation de Lineweaver) :

$$\frac{1}{v} = \frac{K_m + S}{v_{max} \cdot S} = \frac{K_m}{v_{max}} \cdot \frac{1}{S} + \frac{1}{v_{max}} \qquad [72]$$

Cette représentation correspond donc à une droite, de pente $\frac{K_m}{v_{max}}$ et d'ordonnée à l'origine $\frac{1}{v_{max}}$ (figure 166).

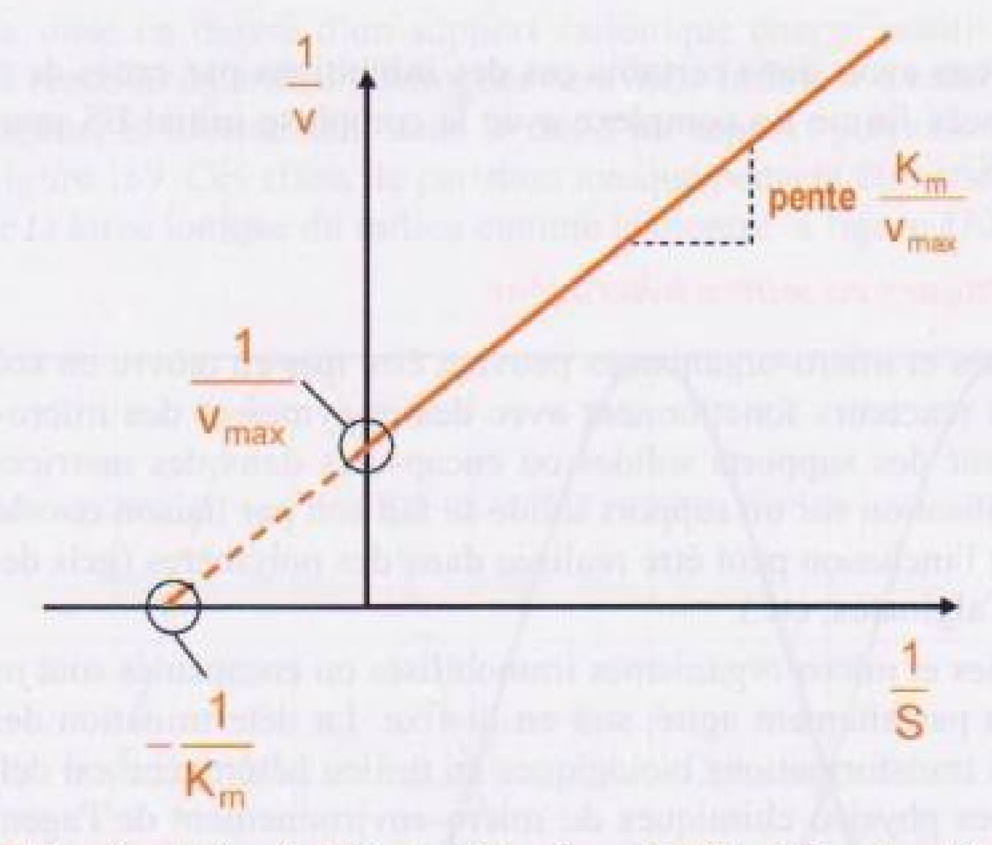


Figure 166 ■ Représentation linéaire de l'équation de Michaélis selon Lineweaver.

En présence d'un inhibiteur (concentration I) susceptible de s'associer avec l'enzyme ou le complexe enzyme/substrat (constante d'association k_i), différents types d'inhibitions peuvent être rencontrés (figure 167) :

– compétitive : l'inhibiteur I forme un complexe EI avec l'enzyme ;

– incompétitive : l'inhibiteur forme un complexe avec le complexe ES pour donner un nouveau complexe ESI ;

– non compétitive : l'inhibiteur forme des complexes avec l'enzyme et le complexe ES en donnant les complexes EI et ESI.

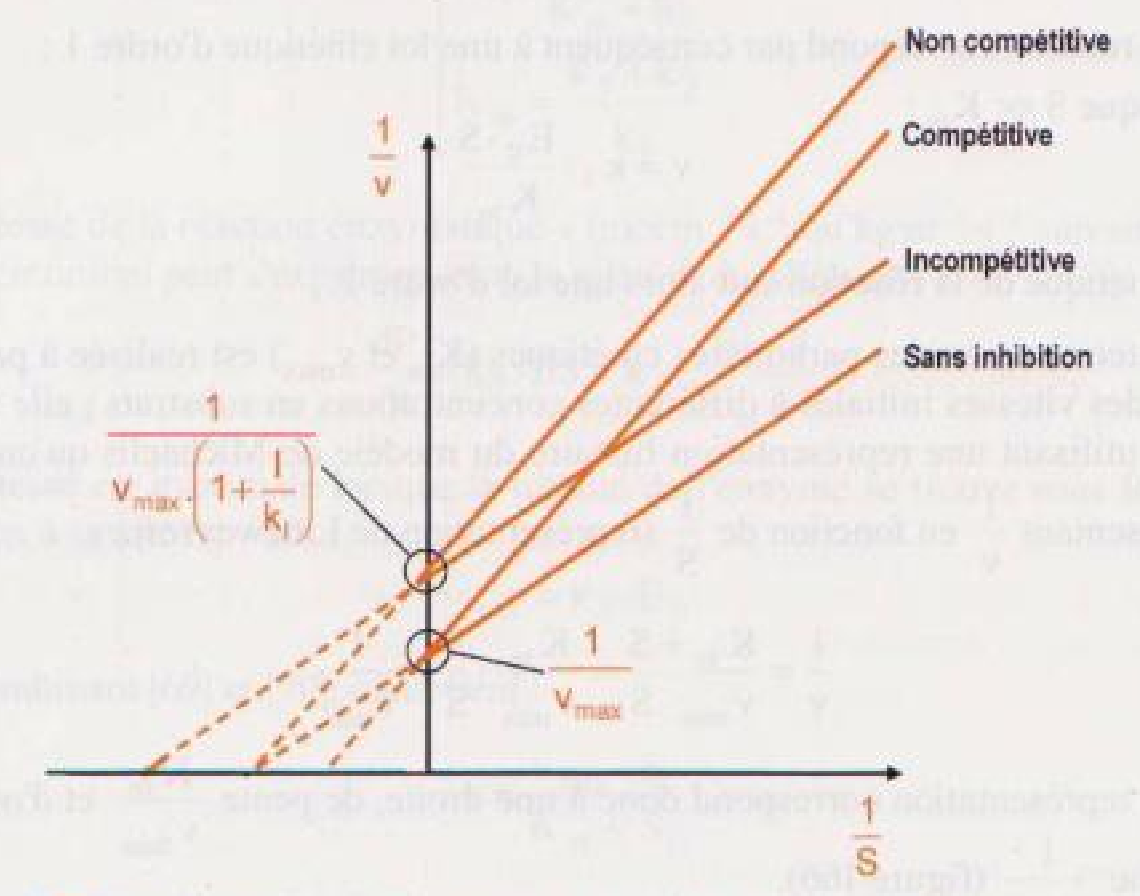


Figure 167 ■ Représentation de Lineweaver en présence d'inhibiteurs.

Nous pouvons avoir dans certains cas des inhibitions par excès de substrats ; le substrat en excès forme un complexe avec le complexe initial ES pour donner un complexe ESS.

1.2.3. Cinétiques en milieu hétérogène

Les enzymes et micro-organismes peuvent être mis en œuvre en solution agitée mais certains réacteurs fonctionnent avec des enzymes et des micro-organismes immobilisés sur des supports solides ou encapsulés dans des matrices particulaires ; l'immobilisation sur un support solide se fait soit par liaison covalente, soit par adsorption, et l'inclusion peut être réalisée dans des polymères (gels de polyacrylamide, billes d'alginates, etc.).

Ces enzymes et micro-organismes immobilisés ou encapsulés sont mis en œuvre soit en milieu parfaitement agité, soit en lit fixe. La détermination des conditions optimales des transformations biologiques en milieu hétérogène est délicate car les caractéristiques physico-chimiques du micro-environnement de l'agent biologique (conditions de réaction) peuvent être différentes de celles du milieu et difficiles à appréhender.

Les supports mis en œuvre pour immobiliser ou encapsuler les agents biologiques sont le plus souvent des polymères chargés de nature cationique ou anionique. Ces supports chargés génèrent des effets de partition ionique (figure 168) qui créent des gradients de pH et de solutés de nature ionique (substrat ou produit de réaction) : ainsi, le pH et les concentrations en solutés de l'environnement réactionnel seront différents de ceux du milieu.

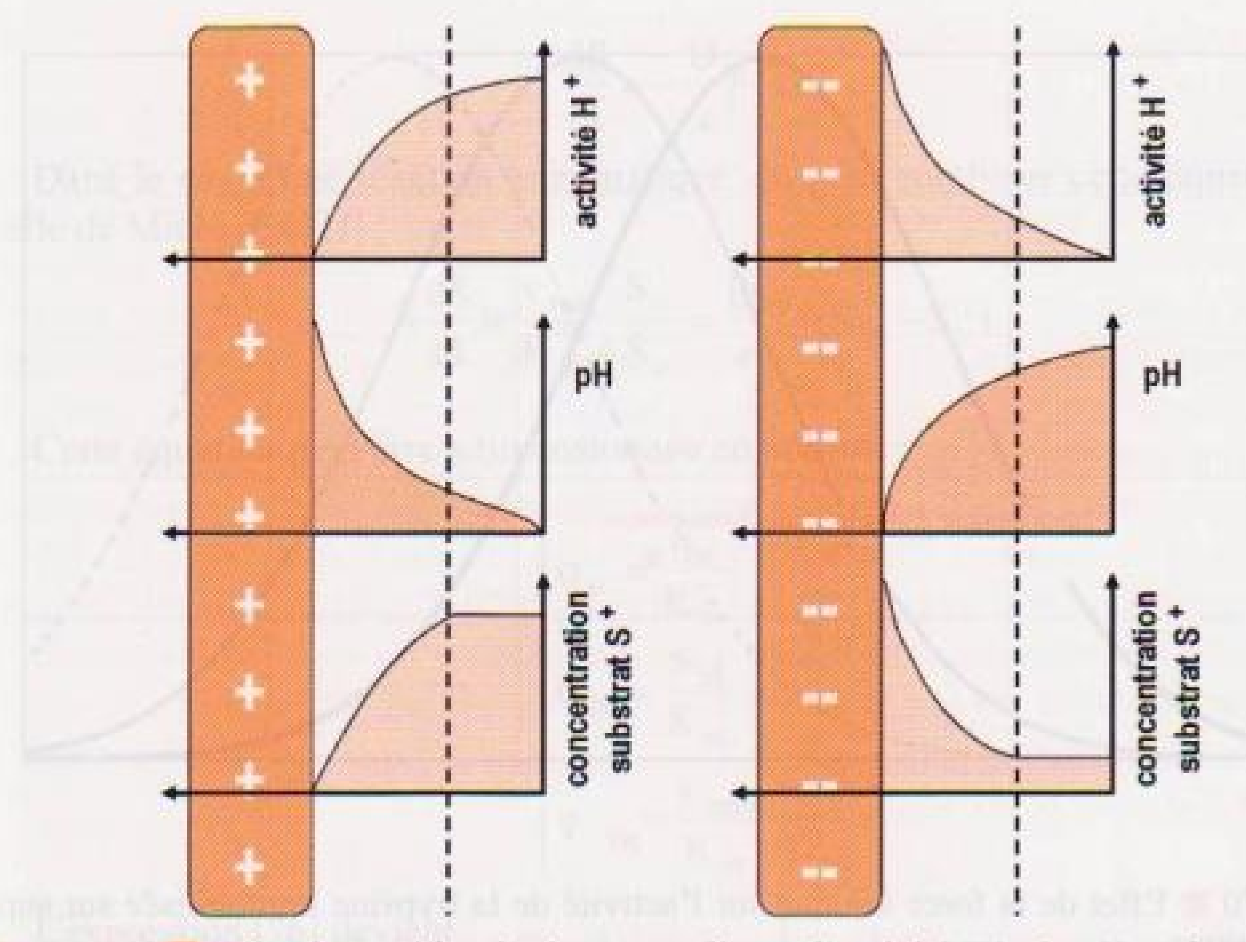


Figure 168 ■ Effet de partition ionique : gradients d'activité H^+, de pH et de concentration d'un substrat S chargé positivement à l'interface d'un support chargé.

Lors de la mise en œuvre d'un support cationique chargé positivement, le pH optimal de la réaction en milieu hétérogène sera donc inférieur à celui déterminé en milieu homogène, et inversement dans le cas d'un support polyanionique, comme l'illustre la figure 169. Ces effets de partition ionique peuvent être atténués par augmentation de la force ionique du milieu comme le montre la figure 170.

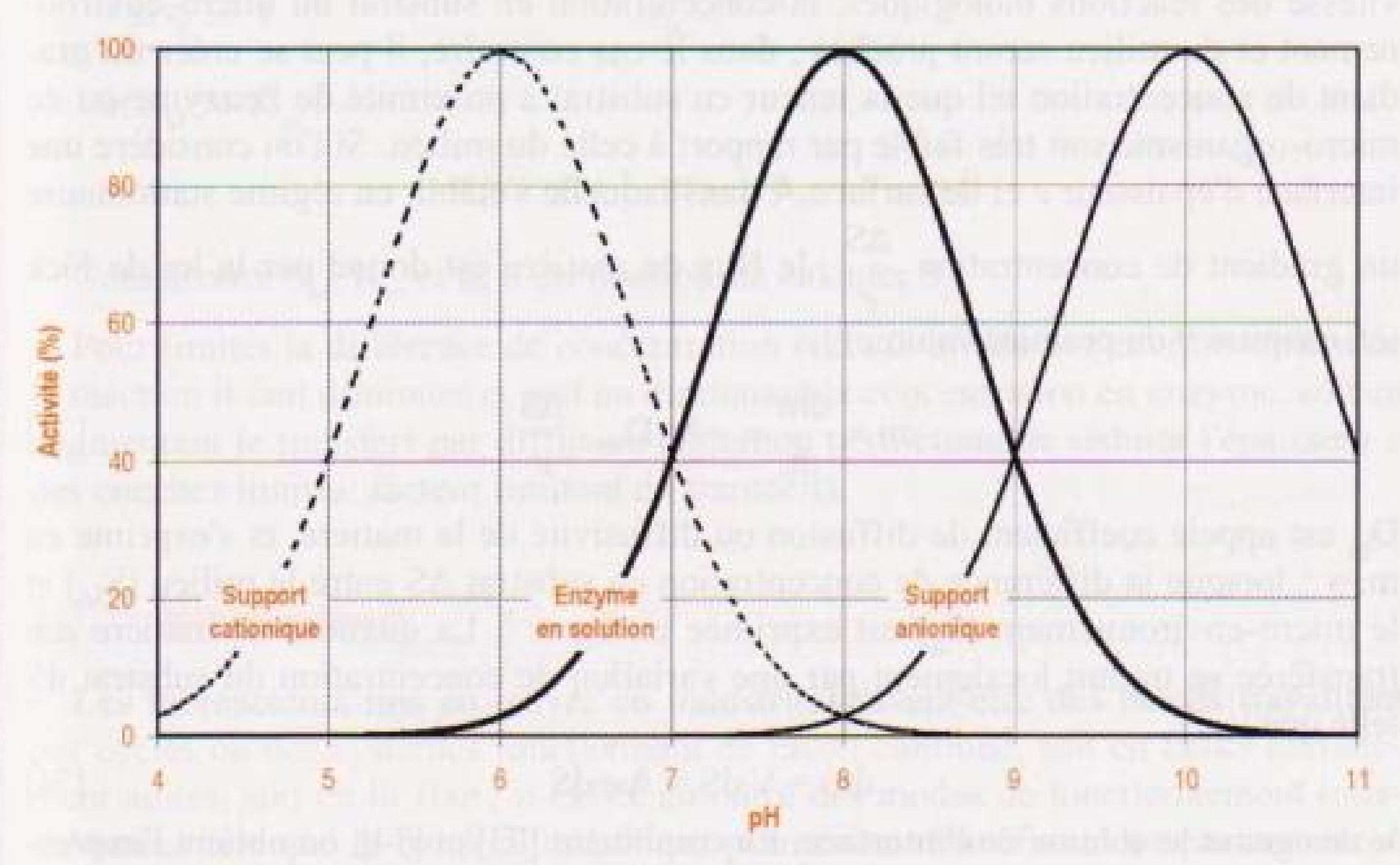


Figure 169 ■ Activité de la trypsine en fonction du pH.

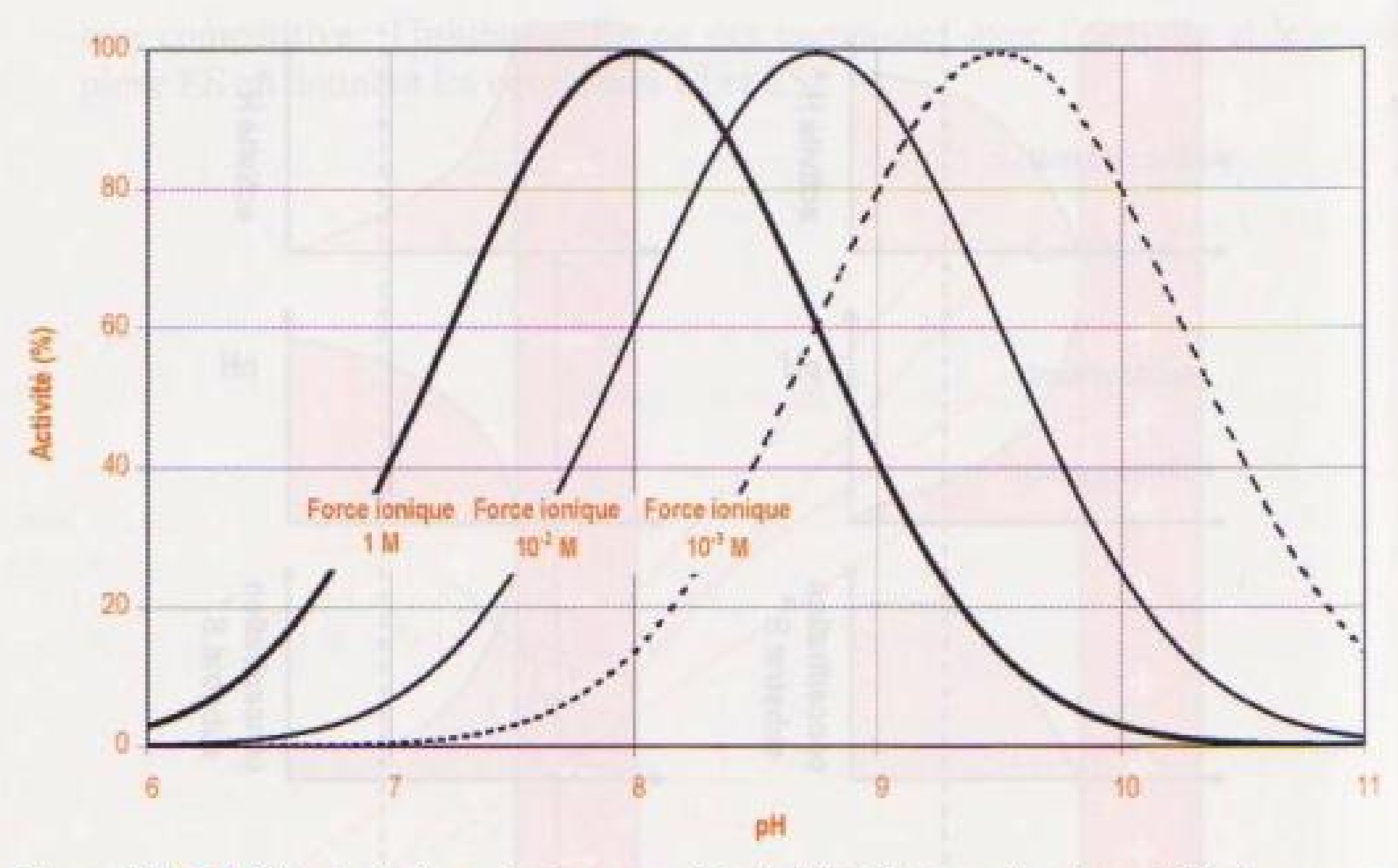


Figure 170 ■ Effet de la force ionique sur l'activité de la trypsine immobilisée sur support anionique.

Un autre phénomène susceptible de modifier les paramètres cinétiques en milieu hétérogène est la limite diffusionnelle des substrats ou des produits de la réaction dans les matrices ou aux interfaces des phases solides et liquides. La consommation ou transformation du substrat dans le micro-environnement des agents biologiques génère un gradient de concentration et il en résulte un transfert du milieu vers le micro-environnement : si la vitesse de transfert est grande par rapport à la vitesse des réactions biologiques, la concentration en substrat du micro-environnement et du milieu seront proches ; dans le cas contraire, il peut se créer un gradient de concentration tel que la teneur en substrat à proximité de l'enzyme ou du micro-organisme soit très faible par rapport à celle du milieu. Si l'on considère une interface d'épaisseur e et de surface A dans laquelle s'établit en régime stationnaire un gradient de concentration $\frac{\Delta S}{e}$, le flux de matière est donné par la loi de Fick (cf. chapitre 9 du premier volume) :

$$\dot{m} = \frac{dm}{dt} = -A \cdot D_m \cdot \frac{\Delta S}{e} \qquad [73]$$

D_m est appelé coefficient de diffusion ou diffusivité de la matière, et s'exprime en $m^2 \cdot s^{-1}$ lorsque la différence de concentration en substrat ΔS entre le milieu (S_M) et le micro-environnement (S_μ) est exprimée en $kg \cdot m^{-3}$. La quantité de matière dm transférée se traduit localement par une variation de concentration du substrat dS telle que :

$$dm = V \cdot dS = A \cdot e \cdot dS \qquad [74]$$

V désignant le volume de l'interface. En combinant [73] et [74], on obtient l'expression de la vitesse de variation de concentration du substrat :

$$\frac{dS}{dt} = -\frac{D_m}{e^2} \cdot \Delta S \qquad [75]$$

Dans le cas d'une réaction enzymatique, on peut combiner cette équation avec celle de Michaélis [71] :

$$\frac{dS}{dt} = \frac{v_{max} \cdot S_\mu}{K_m + S_\mu} = \frac{D_m}{e^2} \cdot (S_M - S_\mu) \qquad [76]$$

Cette équation peut être adimensionnée en posant :

$$\begin{cases} \sigma_\mu = \dfrac{S_\mu}{K_m} \\ \sigma_M = \dfrac{S_M}{K_m} \\ \varphi = \dfrac{v_{max}}{K_m} \cdot \dfrac{e^2}{D_m} \end{cases}$$

L'expression [76] devient :

$$\sigma_M - \sigma_\mu = \frac{\varphi \cdot \sigma_\mu}{1 + \sigma_\mu} \qquad [77]$$

Suivant les cas, l'équation [77] se ramène à :

– si $S_M \ll K_m$, on a σ_M et $\sigma_\mu \ll 1$:

- si $\varphi \ll 1$ $\qquad \sigma_\mu = \sigma_M$
- si $\varphi \gg 1$ $\qquad \sigma_\mu = \dfrac{\sigma_M}{\varphi}$

– si $S_M \gg K_m$:

$$\sigma_\mu^2 + (\varphi + 1 - \sigma_M) \cdot \sigma_\mu - \sigma_M = 0$$

Connaissant S_M, K_m et φ, il est possible de calculer S_μ.

Pour limiter la différence de concentration entre le milieu et l'environnement de la réaction il faut diminuer φ, soit en diminuant la concentration en enzyme, soit en augmentant le transfert par diffusion (agitation permettant de réduire l'épaisseur *e* des couches limites, facteur limitant du transfert).

1.3. Bioréacteurs

Les bioréacteurs mis en œuvre en industrie peuvent être des batchs travaillant par cycles ou des systèmes fonctionnant de façon continue, soit en tanks parfaitement agités, soit en lit fixe ; il existe en outre des modes de fonctionnement intermédiaires tels que le batch alimenté qui permettent d'améliorer les performances par rapport au batch classique.

1.3.1. *Réacteur discontinu (batch)*

La mise en œuvre d'un tel réacteur dans le cas de bioconversion enzymatique est relativement simple et ne nécessite pas d'équipements coûteux. Il se compose en général d'un tank agité et thermostaté afin de maîtriser les températures de réaction ; il est nécessaire pour certains types de réactions de disposer d'une régulation de pH permettant d'en ajuster la valeur (plage optimale) et de corriger les dérives consécutives à la réaction (par exemple hydrolyse des protéines). Ces réacteurs peuvent fonctionner avec de l'enzyme libre en solution ou avec des enzymes immobilisées maintenues en suspension par agitation ; l'intérêt des enzymes immobilisées est de pouvoir récupérer aisément la préparation enzymatique par décantation ou filtration pour la réutiliser. Les techniques de filtration tangentielle (ultrafiltration notamment) permettent également la récupération de l'agent biologique dans le cas d'utilisation d'enzymes en solution, mais uniquement lorsque les produits de la réaction sont de faible poids moléculaire.

Le fonctionnement d'un réacteur enzymatique de type batch peut être modélisé à partir de la relation de Michaélis [69] :

$$-\frac{dS}{dt}=\frac{v_{max}\cdot S}{K_m+S}=\frac{k\cdot E_t\cdot S}{K_m+S} \qquad [78]$$

où E_t désigne la concentration totale en enzyme (libre et complexée au substrat) et k la constante de vitesse d'ordre 1 d'apparition du produit (s^{-1}). Soit :

$$-(K_m+S)\cdot\frac{dS}{S}=k\cdot E_t\cdot dt$$

qui s'intègre de t = 0 (concentration S_0) à t (concentration S) en :

$$K_m\cdot\ln\left(\frac{S_0}{S}\right)+(S_0-S)=k\cdot E_t\cdot t \qquad [79]$$

Par ailleurs, le taux de conversion χ du substrat (sans dimensions) se définit selon :

$$\chi=\frac{S_0-S}{S_0} \qquad [80]$$

L'équation [79], exprimée en fonction de χ, devient :

$$S_0\cdot\chi-K_m\cdot\ln(1-\chi)=k\cdot E_t\cdot t \qquad [81]$$

Les paramètres cinétiques de la réaction dans le réacteur peuvent alors être déterminés graphiquement selon la figure 171.

Le réacteur batch microbien peut être également modélisé à partir de la vitesse de croissance des micro-organismes ; en absence d'inhibition, le modèle peut s'établir à partir de l'équation de Monod [59] :

$$\frac{dX}{dt}=\frac{\mu_{max}\cdot S}{K_S+S}\cdot X$$

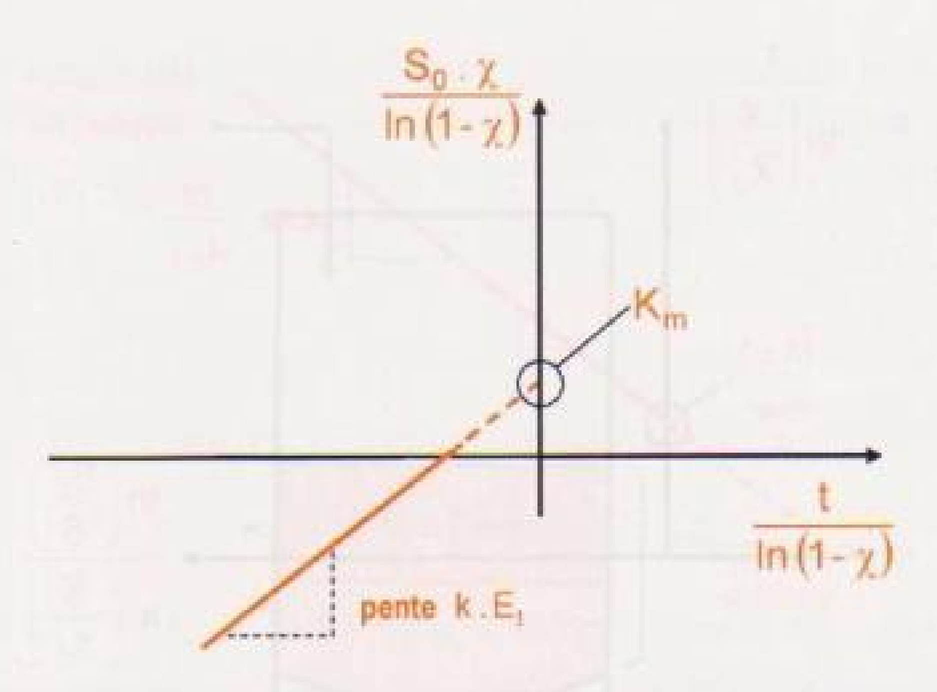


Figure 171 ■ Détermination des paramètres cinétiques dans un réacteur batch.

D'où :

$$dt = \frac{K_S}{\mu_{max} \cdot S} \cdot \frac{dX}{X} + \frac{1}{\mu_{max}} \cdot \frac{dX}{X} \qquad [82]$$

Si Ψ est le rendement de bioconversion du substrat, S_0 la concentration initiale et S la concentration à l'instant t, la population microbienne X et sa variation dX sont respectivement égales à :

$$X = X_0 + \psi \cdot (S_0 - S)$$

$$dX = -\psi \cdot dS$$

En les remplaçant dans l'équation [82], et en intégrant de S_0 à S, on obtient :

$$t = \frac{1}{\mu_{max}} \cdot \frac{K_S}{\frac{X_0}{\psi} + S_0} \cdot \left[\ln\left(\frac{S_0}{S}\right) + \ln\left(\frac{X}{X_0}\right) \right] + \frac{1}{\mu_{max}} \cdot \ln\left(\frac{X}{X_0}\right) \qquad [83]$$

En posant $M = \frac{K_S}{\frac{X_0}{\psi} + S_0}$, l'expression [83] devient :

$$t = \frac{1}{\mu_{max}} \cdot \left[M \cdot \ln\left(\frac{S_0}{S}\right) + (M+1) \cdot \ln\left(\frac{X}{X_0}\right) \right] \qquad [84]$$

Les différents paramètres de l'équation [84] peuvent être déterminés à l'aide de la représentation linéaire de la figure 172.

1.3.2. Réacteur discontinu alimenté (Fed batch)

Le batch alimenté présente un intérêt dans le cas du réacteur microbien où le contrôle de la concentration en substrat permet de diriger la réaction (par exem-

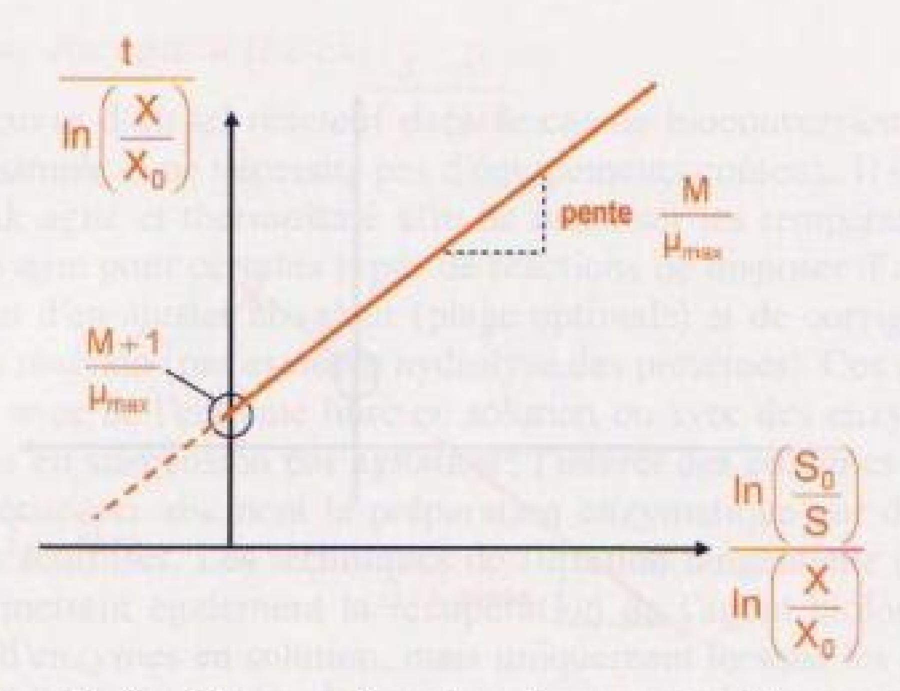


Figure 172 ■ Détermination des paramètres de croissance microbienne.

ple, production de levure de boulangerie sans production d'éthanol par limitation de concentration en sucre du substrat). Ce mode consiste à démarrer la croissance dans un pied de cuve de volume V_0 jusqu'à l'obtention de la concentration en substrat correspondant à la vitesse maximale de croissance (figure 163) ; lorsque cette concentration est atteinte, on alimente en continu le batch à un débit $\dot{V}$ tel que l'apport de substrat est équivalent à sa consommation par les micro-organismes, afin que l'on demeure toujours à la concentration en substrat S donnant la vitesse maximale. Si la concentration initiale en micro-organismes X_0 est négligeable par rapport à la population microbienne $X = \psi \cdot (S_0 - S)$ générée dans le pied de cuve avant l'alimentation du réacteur, la concentration en substrat correspondant à la vitesse maximale est :

$$S = \sqrt{K_S^2 + K_S \cdot S_0} - K_S$$

Si V_t et $\dot{V}_t$ désignent respectivement le volume introduit et le débit d'alimentation à l'instant t (figure 173), la variation de concentration en substrat dS résultant de l'apport de substrat à une concentration S_0 pendant un temps dt est :

$$dS = \frac{\dot{V}_t \cdot (S_0 - S) \cdot dt}{V_0 + V_t} = \frac{\dot{V}_t \cdot (S_0 - S) \cdot dt}{V_0 + \int \dot{V}_t \cdot dt}$$

Pour que la concentration en substrat demeure égale à S, il faut que cet apport en substrat soit consommé en dt selon $dS = \mu \cdot \frac{X}{\psi} \cdot dt = \mu \cdot (S_0 - S) \cdot dt$. D'où :

$$\dot{V}_t = \mu \cdot (V_0 + \int \dot{V}_t \cdot dt) \qquad [85]$$

Le débit volumique augmente donc de façon exponentielle, jusqu'à ce que le réacteur soit plein : on coupe alors l'alimentation, et la culture évolue selon les principes exposés au chapitre 10, § 1.3.1.

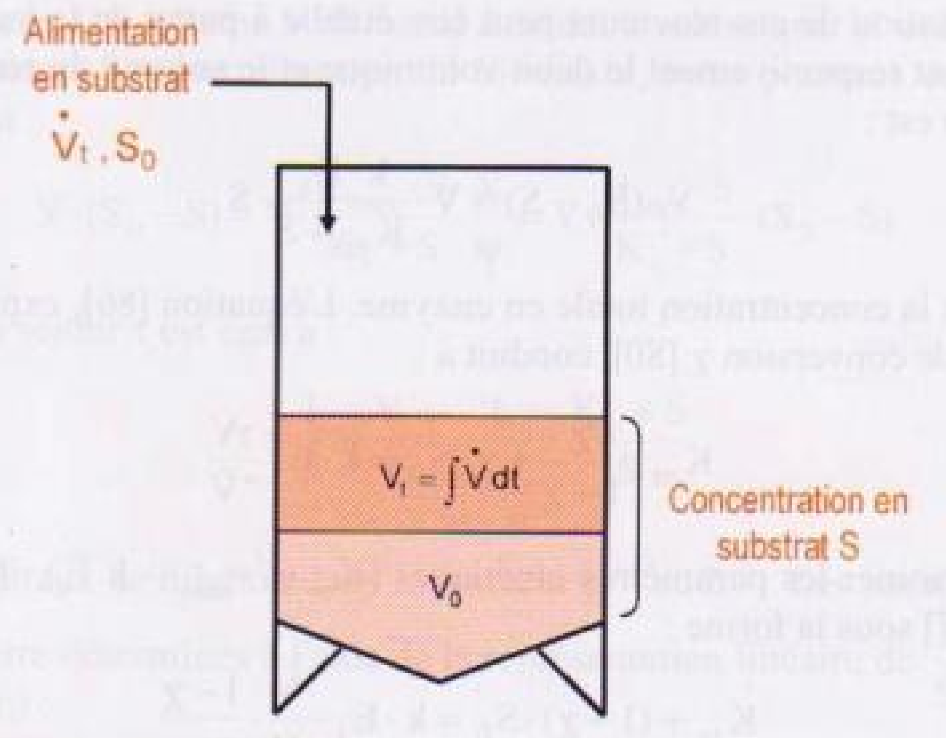


Figure 173 ■ Réacteur batch alimenté.

1.3.3. Réacteur continu parfaitement agité (CSTR : continued stirred tank reactor)

Dans le cas de ce réacteur, le contenu est parfaitement agité donc homogène : la concentration en substrat et produit est constante dans l'ensemble du réacteur, et identique à celle du fluide sortant. L'enzyme doit être retenue au sein du réacteur soit en utilisant des enzymes immobilisées sur support solide (figure 174 a), soit en couplant le réacteur avec une membrane d'ultrafiltration (figure 174 b).

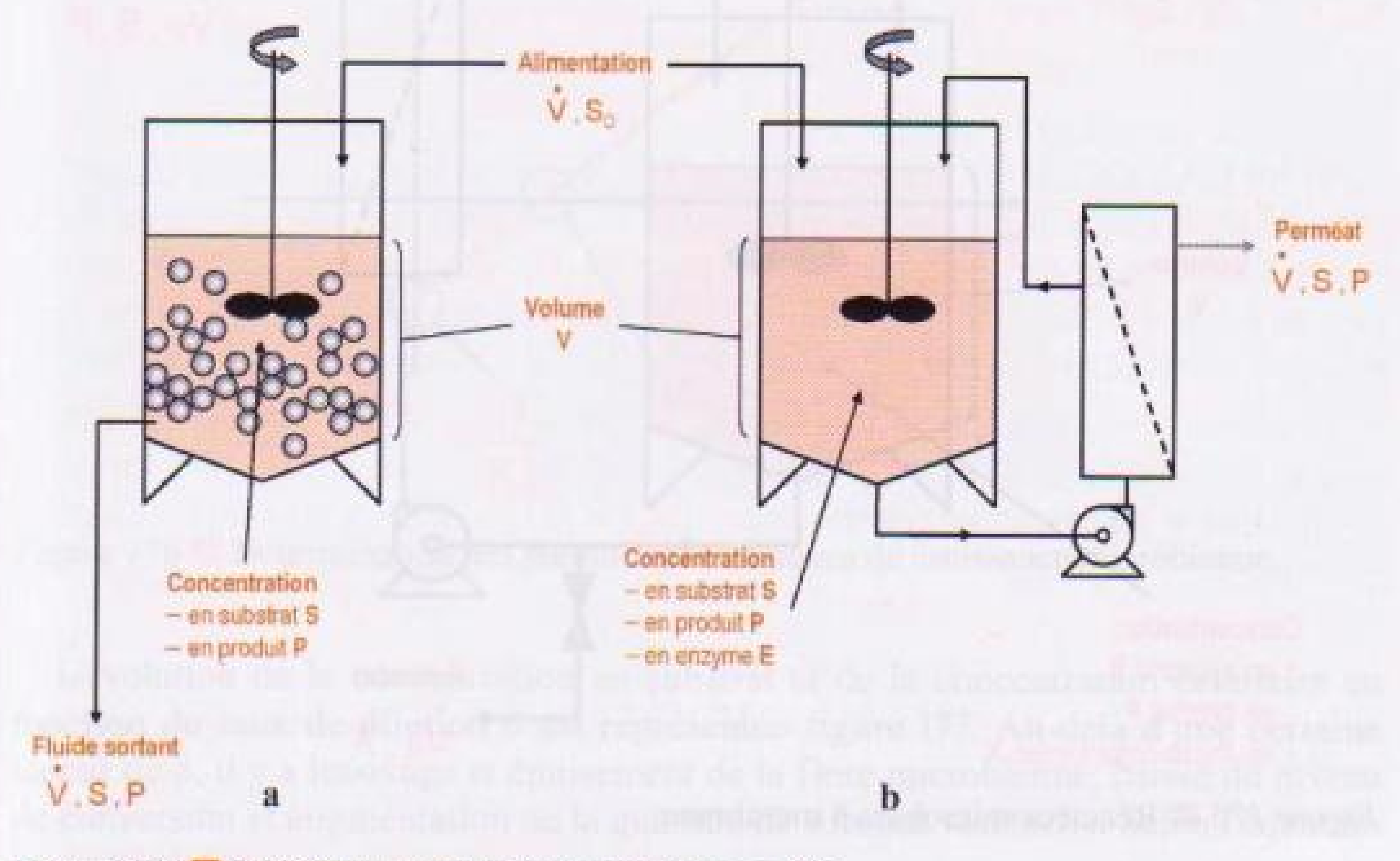


Figure 174 ■ Réacteurs enzymatiques continus agités.
a : réacteur à enzyme immobilisée ; b : réacteur enzymatique agité à membrane.

La modélisation de ces réacteurs peut être établie à partir de la loi de Michaelis. Si $\dot{V}$ et V sont respectivement le débit volumique et le volume du réacteur, le bilan de la réaction est :

$$\dot{V} \cdot (S_0 - S) = V \cdot \frac{k \cdot E_t}{K_m + S} \cdot S \qquad [86]$$

où E_t désigne la concentration totale en enzyme. L'équation [86], exprimée en fonction du taux de conversion χ [80], conduit à :

$$K_m \cdot \frac{\chi}{1-\chi} + \chi \cdot S_0 = k \cdot E_t \cdot \frac{V}{\dot{V}} \qquad [87]$$

Pour déterminer les paramètres cinétiques (K_m et $v_{max} = k\ E_t$), il suffit d'écrire l'équation [87] sous la forme :

$$K_m + (1-\chi) \cdot S_0 = k \cdot E_t \cdot \frac{V}{\dot{V}} \cdot \frac{1-\chi}{\chi}$$

et de représenter $(1 - \chi) \cdot S_0$ en fonction de $\frac{V}{\dot{V}} \cdot \frac{1-\chi}{\chi}$.

Dans le cas d'un réacteur microbien, on élimine totalement ou partiellement les micro-organismes en même temps que les métabolites et les substrats résiduels ; la rétention des micro-organismes dans le réacteur est réalisée à l'aide d'une membrane d'ultrafiltration (figure 175).

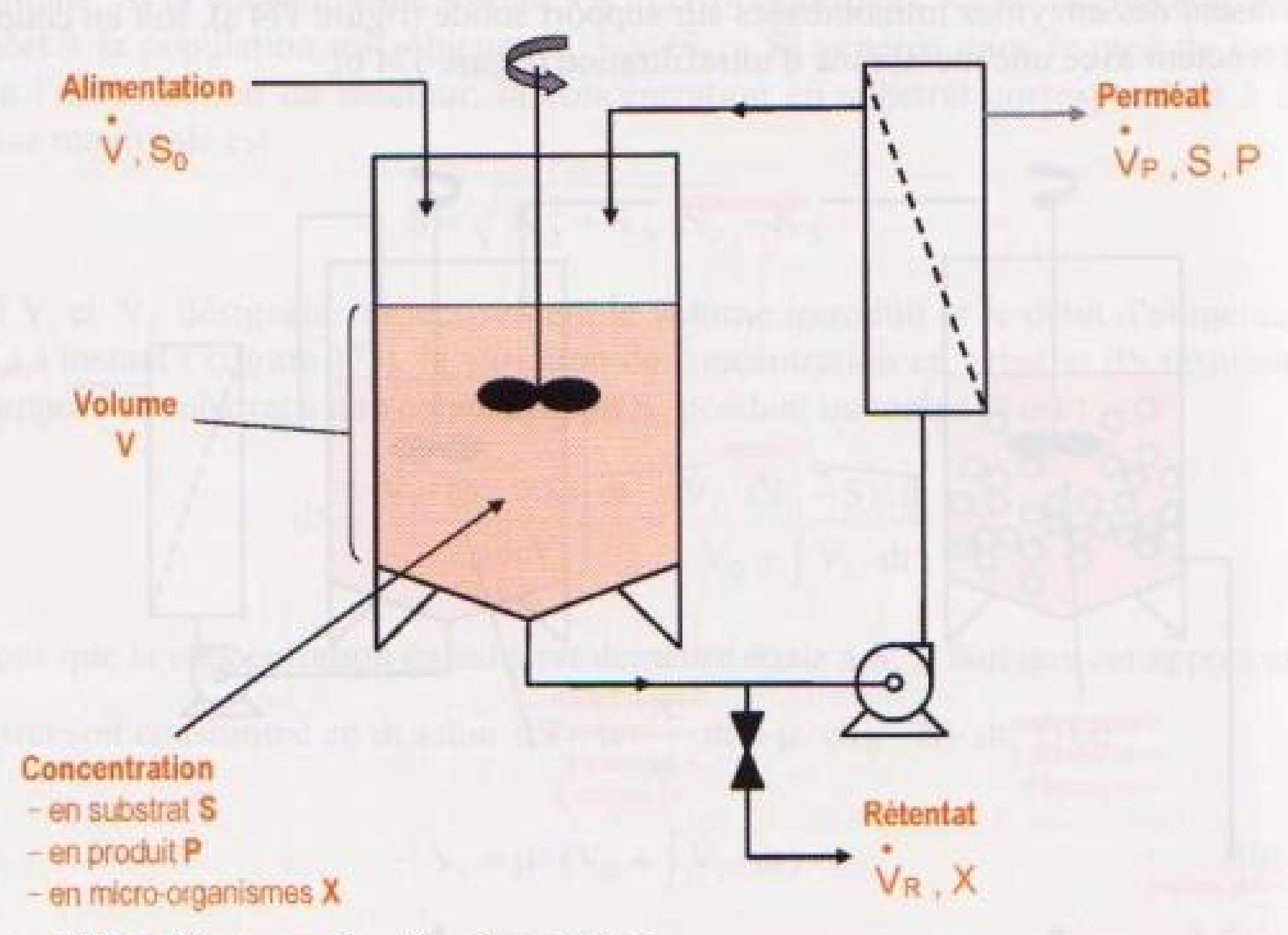


Figure 175 ■ Réacteur microbien à membrane.

Pour un réacteur de volume V alimenté à un débit volumique $\dot{V}$ et à une concentration en substrat S_0 sans rétention de biomasse, nous pouvons écrire le bilan matière suivant :

$$\dot{V} \cdot (S_0 - S) = V \cdot \frac{\mu_{max} \cdot S}{K_s + S} \cdot \frac{X}{\psi} = V \cdot \frac{\mu_{max} \cdot S}{K_s + S} \cdot (S_0 - S) \qquad [88]$$

Le temps de séjour τ est égal à :

$$\tau = \frac{1}{\delta} = \frac{V}{\dot{V}} = \frac{1}{\mu_{max}} \cdot \frac{K_s + S}{S} \qquad [89]$$

où δ désigne le taux de dilution dans le réacteur (s^{-1} ou h^{-1}). Les paramètres cinétiques peuvent être déterminés à l'aide de la représentation linéaire de $\frac{1}{S}$ en fonction de τ (figure 176) :

$$\frac{1}{S} = \frac{\mu_{max}}{K_S} \cdot \tau - \frac{1}{K_s} \qquad [90]$$

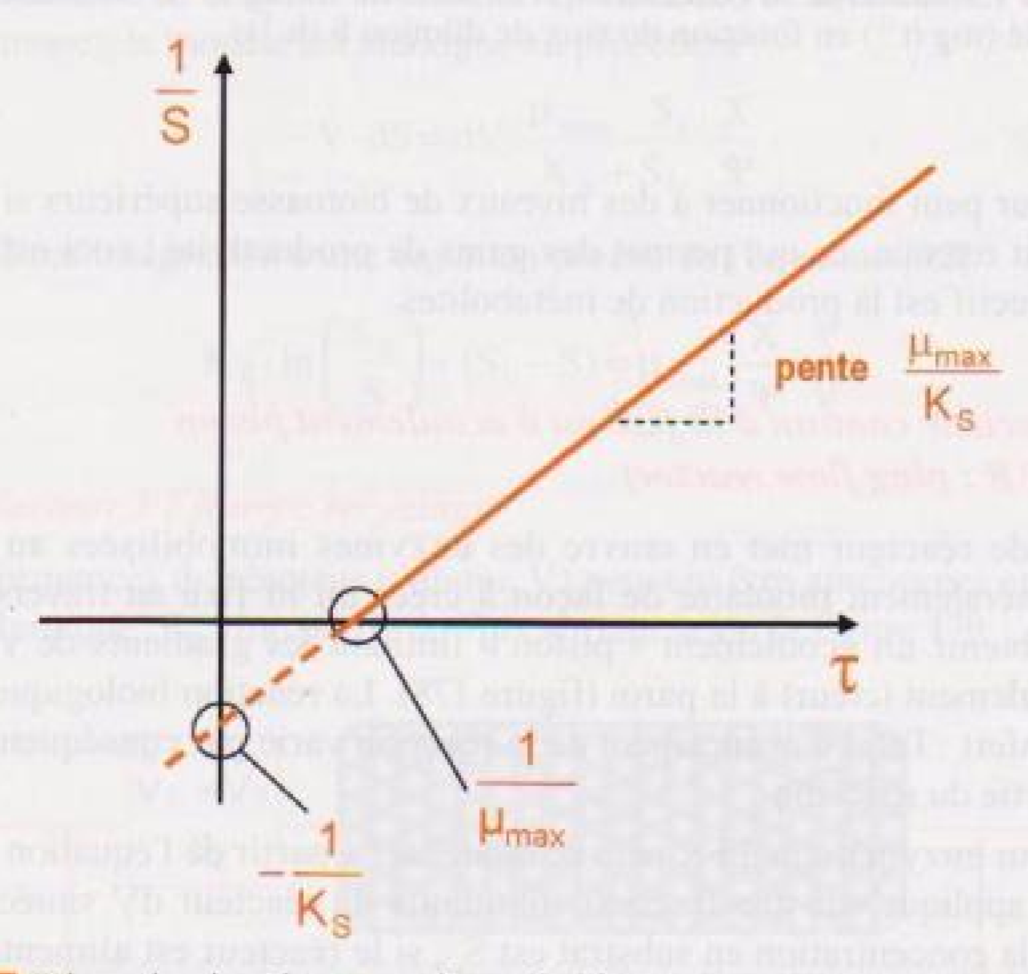


Figure 176 ■ Détermination des paramètres cinétiques de croissance microbienne.

L'évolution de la concentration en substrat et de la concentration cellulaire en fonction du taux de dilution δ est représentée figure 177. Au-delà d'une certaine valeur de δ, il y a lessivage et épuisement de la flore microbienne, baisse du niveau de conversion et augmentation de la quantité de substrat résiduelle. Selon l'équation [90], $\frac{1}{S}$ décroît rapidement lorsque $\delta = \frac{1}{\tau}$ tend vers μ_{max}.

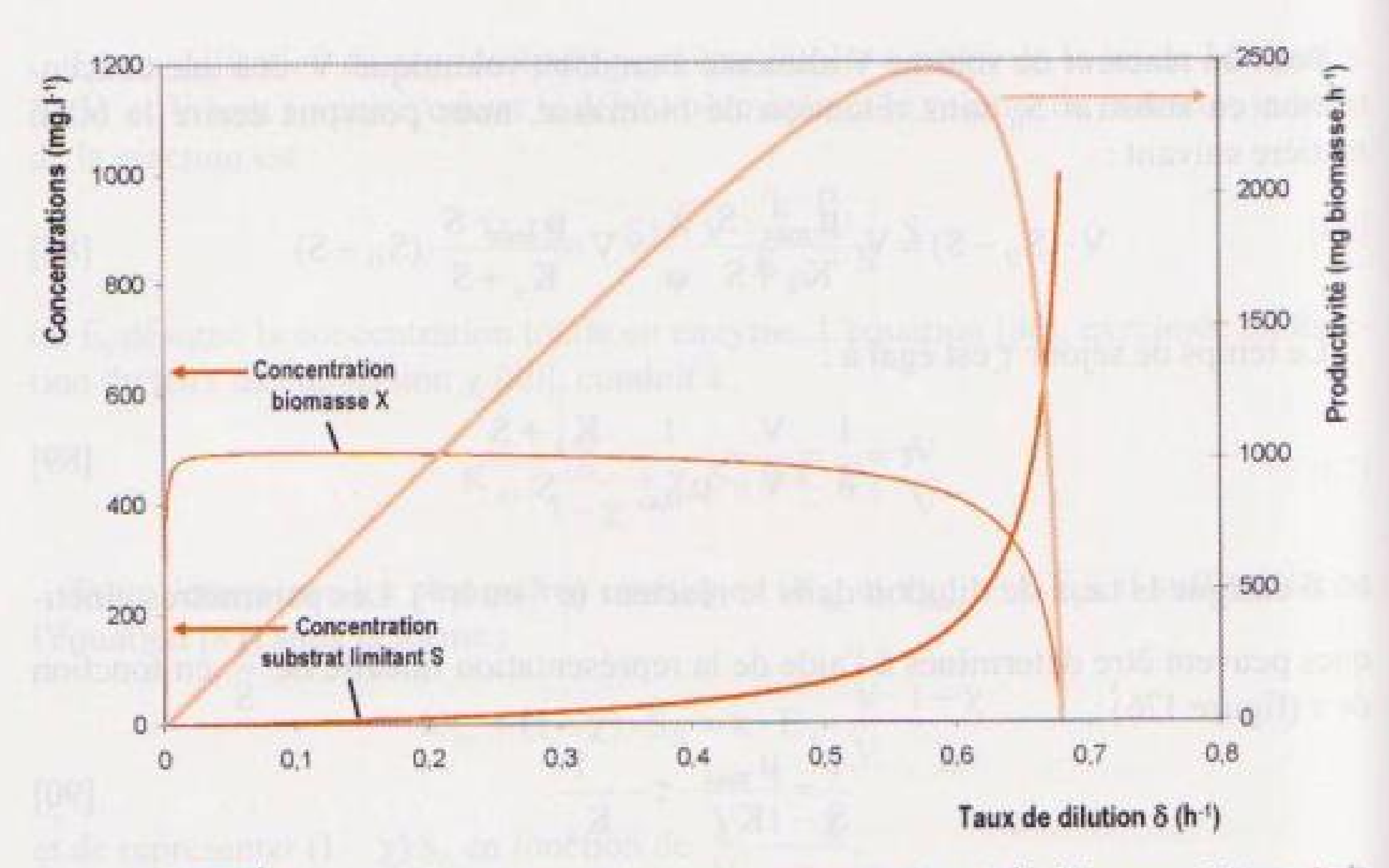


Figure 177 ■ Évolution de la concentration en substrat S ($mg \cdot L^{-1}$), biomasse X ($mg \cdot L^{-1}$) et productivité ($mg \cdot h^{-1}$) en fonction du taux de dilution δ (h^{-1}).

Le réacteur peut fonctionner à des niveaux de biomasse supérieurs si celle-ci est partiellement retenue, ce qui permet des gains de productivité ; ceci est intéressant lorsque l'objectif est la production de métabolites.

1.3.4. Réacteur continu à lit fixe ou à écoulement piston (PFR : plug flow reactor)

Ce type de réacteur met en œuvre des enzymes immobilisées au sein d'une enceinte généralement tubulaire de façon à créer un lit fixe au travers duquel on cherche à obtenir un écoulement « piston » limitant les gradients de vitesse de la veine d'écoulement (cœur) à la paroi (figure 178). La réaction biologique se déroule lors du transfert : l'état d'avancement de la réaction varie par conséquent entre l'entrée et la sortie du réacteur.

Le réacteur enzymatique PFR peut se modéliser à partir de l'équation de Michaélis que l'on applique sur une fraction volumique du réacteur dV située à un point donné dont la concentration en substrat est S_i ; si le réacteur est alimenté à un débit volumique $\dot{V}$, on peut écrire au niveau de la fraction volumique dV :

$$-\dot{V} \cdot dS = dV \cdot \frac{k \cdot E_t}{K_m + S_i} \cdot S_i$$

Soit :

$$-(K_m + S_i) \cdot \frac{dS}{S_i} = k \cdot E_t \cdot \frac{dV}{\dot{V}} \qquad [91]$$

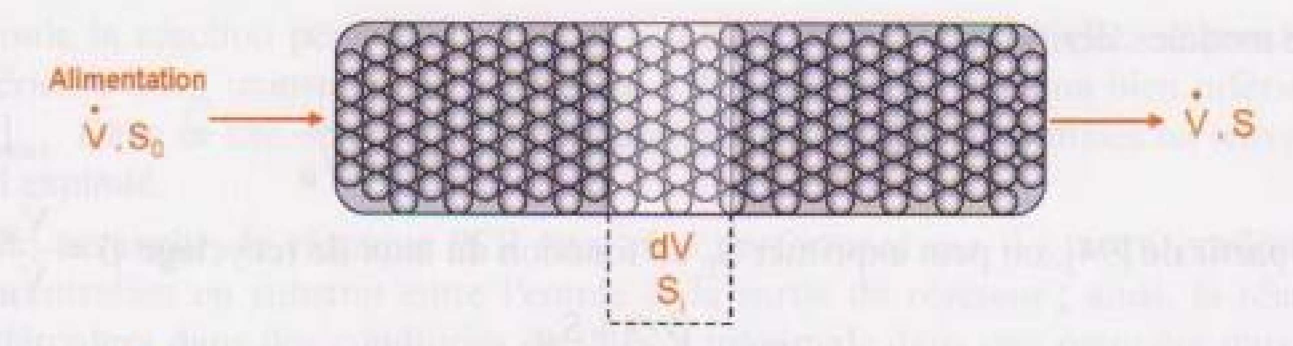


Figure 178 ■ Réacteur PFR à enzyme immobilisée.

Par intégration entre l'entrée et la sortie du réacteur, on obtient un modèle analogue à celui décrit pour le batch avec $t = \tau = \frac{V}{\dot{V}}$ (équation [79]) :

$$K_m \cdot \ln\left(\frac{S_0}{S}\right) + (S_0 - S) = k \cdot E_t \cdot \frac{V}{\dot{V}} \qquad [92]$$

Ce réacteur peut être mis en œuvre également avec des micro-organismes encapsulés ; la charge microbienne étant répartie de façon homogène au sein du réacteur et restant constante au cours de la réaction (production de métabolites sans production de biomasse), le modèle est analogue au précédent :

$$-\dot{V} \cdot dS = dV \cdot \frac{\mu_{max} \cdot S_i}{K_S + S_i} \cdot \frac{X}{\Psi}$$

Il conduit par intégration à une équation proche de l'équation [92] :

$$K_S \cdot \ln\left(\frac{S_0}{S}\right) + (S_0 - S) = \mu_{max} \cdot \frac{X}{\Psi} \cdot \frac{V}{\dot{V}} \qquad [93]$$

1.3.5. Réacteur PFR avec recyclage

Les performances du réacteur (volume V) peuvent être améliorées en recyclant à un débit volumique $\dot{V}_R$ une partie du flux sortant selon la figure 179.

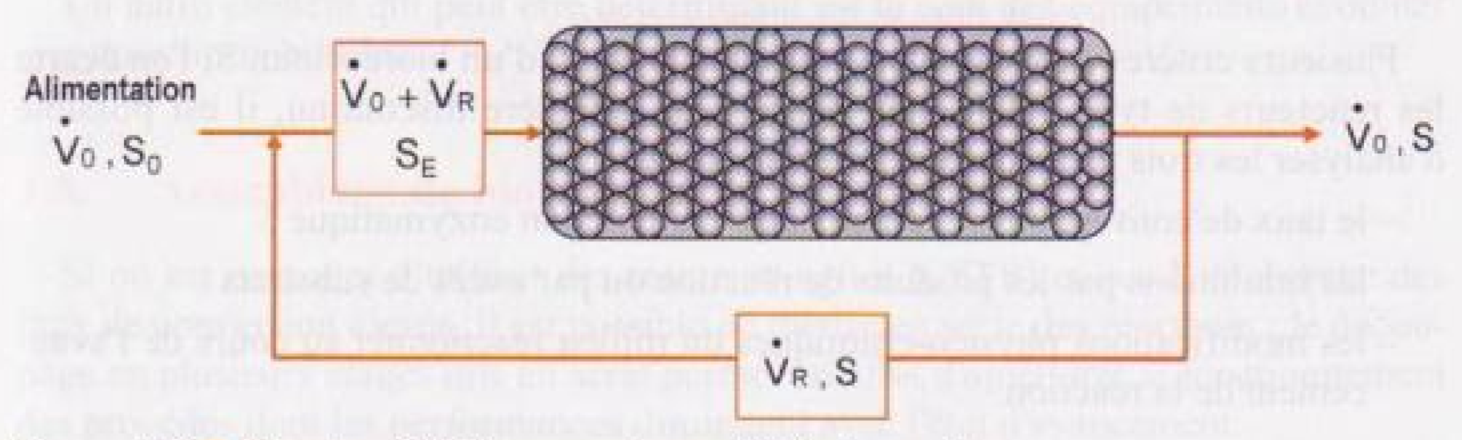


Figure 179 ■ Réacteur PFR à enzyme immobilisée à recyclage.

La concentration en substrat à l'entrée du réacteur S_E est déterminée à partir du bilan matière :

$$\dot{V}_0 \cdot S_0 + \dot{V}_R \cdot S = (\dot{V}_0 + \dot{V}_R) \cdot S_E \qquad [94]$$

Le modèle s'écrit :

$$K_m \cdot \ln\left(\frac{S_E}{S}\right) + (S_E - S) = k \cdot E_t \cdot \frac{V}{\dot{V}_0 + \dot{V}_R} \quad [95]$$

À partir de [94], on peut exprimer S_E en fonction du taux de recyclage $\beta = \frac{\dot{V}_R}{\dot{V}_0}$:

$$S_E = \frac{\beta \cdot S + S_0}{\beta + 1}$$

En remplaçant S_E par cette expression dans [95], on obtient :

$$(\beta + 1) \cdot K_m \cdot \ln\left(\frac{\frac{S_0}{\beta \cdot S} + 1}{\frac{1}{\beta} + 1}\right) + (S_0 - S) = k \cdot E_t \cdot \frac{V}{\dot{V}_0} \quad [96]$$

Dans cette dernière expression, $\frac{S_0}{\beta \cdot S}$ et $\frac{1}{\beta}$ tendent vers 0 quand β augmente. Dans ces conditions, $\ln\left(\frac{S_0}{\beta \cdot S} + 1\right)$ et $\ln\left(\frac{1}{\beta} + 1\right)$ tendent respectivement vers $\frac{S_0}{\beta \cdot S}$ et $\frac{1}{\beta}$, et le modèle recyclé devient alors :

$$\left(\frac{\beta + 1}{\beta}\right) \cdot K_m \cdot \left(\frac{S_0}{S} - 1\right) + (S_0 - S) = k \cdot E_t \cdot \frac{V}{\dot{V}_0} \quad [97]$$

Lorsque β augmente, $\frac{\beta + 1}{\beta}$ tend vers 1, et ce modèle est équivalent à celui d'un réacteur CSTR : un niveau de recyclage très important sur un PFR conduit donc à l'équivalent d'un réacteur agité.

1.4. Critères de choix d'un bioréacteur

Plusieurs critères peuvent intervenir dans le choix d'un bioréacteur. Si l'on écarte les réacteurs de type batch étant donné leur caractère discontinu, il est possible d'analyser les trois principaux critères de choix :

- le taux de conversion recherché dans une réaction enzymatique ;
- les inhibitions par les produits de réaction ou par excès de substrats ;
- les modifications physico-chimiques du milieu réactionnel au cours de l'avancement de la réaction.

1.4.1. Taux de conversion

Nous avons vu que dans le CSTR, les concentrations en substrats résiduels et produits de réaction dans le réacteur agité sont celles de fin de réaction ; si le taux de conversion recherché est très élevé, la concentration S en substrat à laquelle se

déroule la réaction peut être faible, et conduire dans le cas où elle est proche ou inférieure à K_m (constante de Michaelis) à des vitesses de réaction bien inférieures à v_{max}. Dans ce cas, le potentiel de bioconversion des enzymes mises en œuvre est mal exploité.

En revanche, le réacteur PFR sera plus performant car il y a un gradient de concentration en substrat entre l'entrée et la sortie du réacteur ; ainsi, la réaction se déroulera dans des conditions de vitesse maximale dans une première partie du réacteur où la concentration en substrat demeure élevée.

1.4.2. Inhibitions

Lorsque la réaction peut être inhibée par le produit, il est préférable d'utiliser le réacteur PFR car la concentration en produit est faible en tête de réacteur et croit avec l'avancement de la réaction. En revanche, un réacteur agité est plus approprié si la réaction est inhibée par un excès de substrat, puisque ce type de réacteur fonctionne à la concentration finale en substrat.

1.4.3. Modifications physico-chimiques du milieu réactionnel

Au cours de la réaction enzymatique ou de la production de métabolites il peut se produire des évolutions de pH (hydrolyse des protéines, fermentation lactique ou acétique, etc.) qui peuvent avoir des effets négatifs sur les constantes de vitesse des réactions ; dans ce cas il est nécessaire de corriger les dérives de pH ce qui implique à la fois des mesures en continu de pH et des apports d'alcali ou d'acide ; une telle intervention ne pose aucun problème particulier dans un réacteur agité alors qu'elle est beaucoup plus problématique dans un réacteur à lit fixe.

D'autres phénomènes sont susceptibles de se produire, tels qu'une évolution des caractéristiques rhéologiques du milieu réactionnel (augmentation de la viscosité) ou des précipitations ponctuelles ; de telles modifications physico-chimiques peuvent perturber le fonctionnement des réacteurs à lits fixes en créant des pertes de charge ou en colmatant le réacteur ; il sera alors recommandé d'utiliser préférentiellement des réacteurs agités.

Un autre élément qui peut être déterminant est le coût des équipements et/ou des enzymes immobilisées.

1.5. Assemblage de bioréacteurs

Si on est contraint d'utiliser des réacteurs agités (CSTR) et que l'on cherche des taux de conversion élevés, il est possible de mettre en série des réacteurs ; le découpage en plusieurs étages mis en série permet en effet d'améliorer le fonctionnement des procédés dont les performances diminuent avec l'état d'avancement.

Comme l'illustre la figure 180, le premier réacteur fonctionne à une concentration S_i et le second à la concentration finale S. Ainsi, le premier réacteur peut fonctionner dans des conditions de v_{max} alors que le second fonctionnera à une vitesse inférieure v ; un tel système a des performances supérieures à celles d'un réacteur de volume équivalent à la somme de ceux des deux étages.

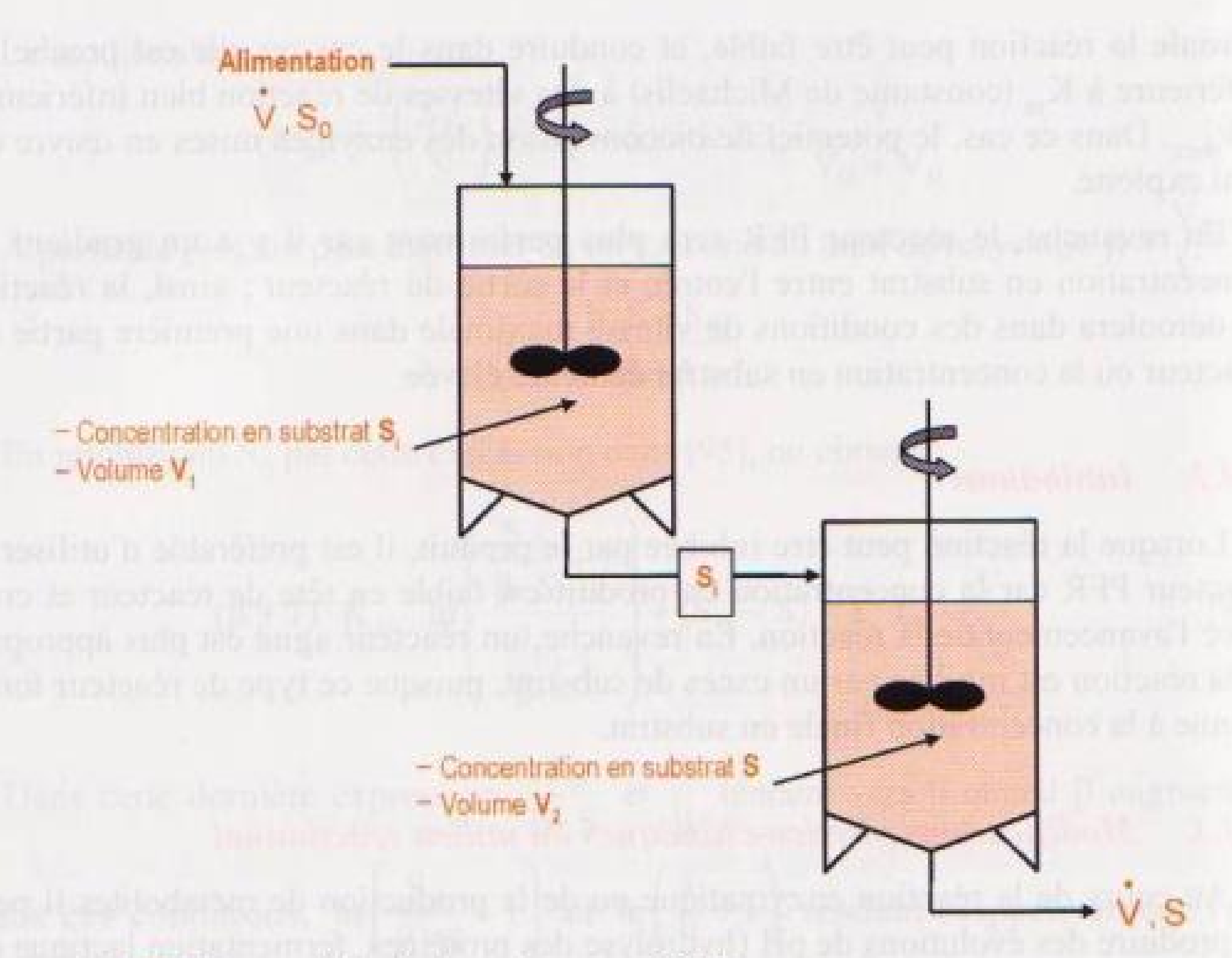


Figure 180 ■ Mise en série de deux réacteurs CSTR.

On peut démontrer graphiquement l'amélioration des performances par découpage en étage d'un CSTR et les comparer à celles d'un réacteur PFR. Dans le cas d'un CSTR, on a :

$$\tau = \frac{V}{\dot{V}} = \frac{S_0 - S}{v_s} \qquad [98]$$

où v_s désigne la vitesse de réaction à la concentration en substrat S. Dans le cas d'un PFR, la relation est :

$$\tau = \int_{S_0}^{S} \frac{dS}{v_s} \qquad [99]$$

La représentation de $\frac{1}{v}$ en fonction de S (figure 181) permet de déterminer graphiquement les valeurs de τ pour chaque type de réacteurs :

– le temps de séjour dans le CSTR correspond à la surface $(S_0 - S) \times \frac{1}{v_s}$;

– le temps de séjour dans un CSTR découpé en deux étages est égal à la somme de τ_1 et τ_2, égaux respectivement aux surfaces $(S_0 - S_i) \times \frac{1}{v_{si}}$ et $(S_i - S) \times \frac{1}{v_s}$;

– le temps de séjour dans le PFR correspond à la surface sous la courbe.

Ainsi, $\tau_{CSTR} > (\tau_1 + \tau_2)_{CSTR} > \tau_{PFR}$, et plus le nombre d'étages est important plus on tend vers les performances d'un réacteur PFR.

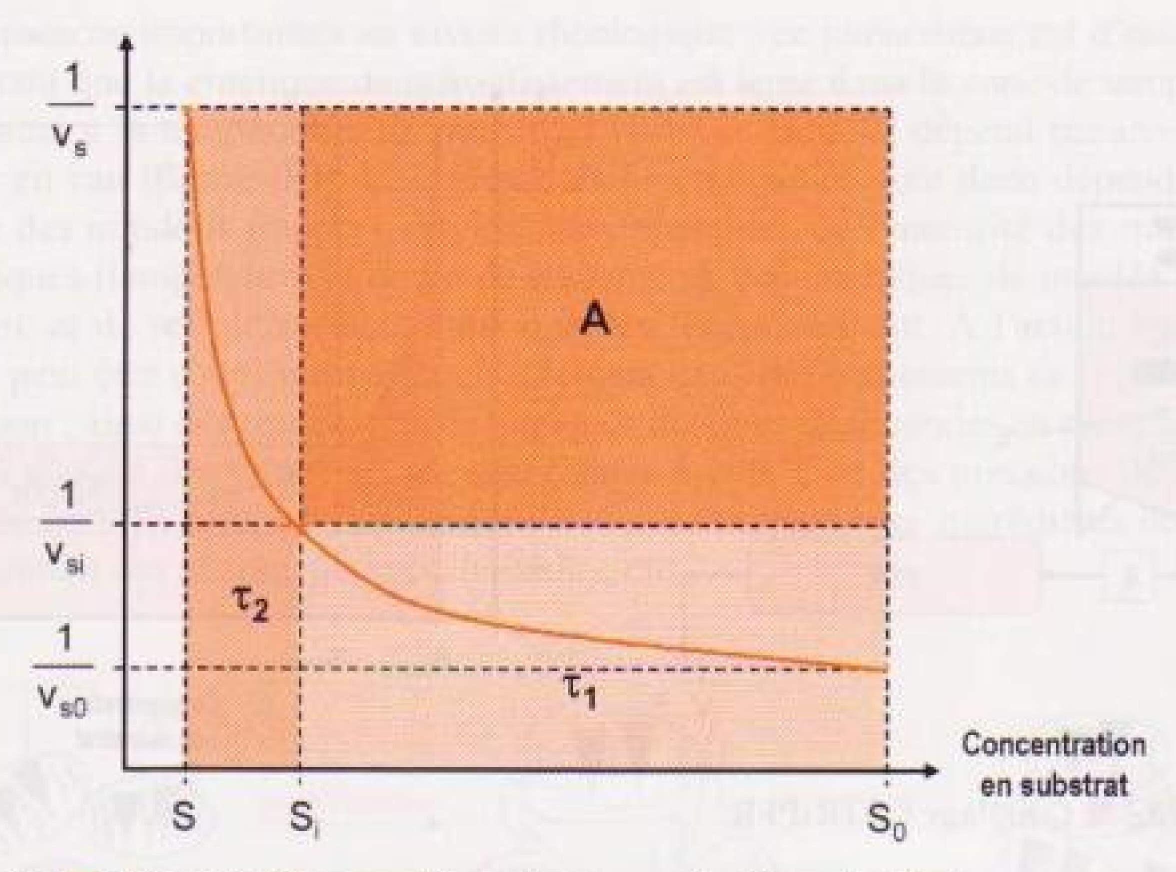


Figure 181 ■ Détermination graphique des temps de séjour de réacteurs.

Dans le cas de deux réacteurs CSTR en série on peut calculer la concentration en substrat Si et en conséquence les temps de séjour ou volumes de chacun des étages pour obtenir les conditions optimales ; pour cela il faut obtenir la plus grande réduction du temps séjour moyen, correspondant à la surface $A = (S_0 - S_i) \cdot \left[\frac{1}{v_s} - \frac{1}{v_{si}}\right]$ la plus grande possible. La dérivée de A par rapport à S_i est :

$$A' = \frac{K_m}{k \cdot E_t} \cdot \left[\frac{S_0}{S_i^2} - \frac{1}{S}\right] \qquad [100]$$

Cette dérivée s'annule pour $S_i^2 = S_0 \cdot S$. Si la concentration en enzyme est la même dans les deux réacteurs, on peut connaissant S_i déterminer les temps de séjour et les volumes de chaque étage, sachant que le débit volumique est le même.

Le couplage d'un réacteur PFR et CSTR peut également être envisagé comme représenté figure 182.

2. *Transformations physico-chimiques*

La technofonctionnalité des biomolécules étant étroitement dépendante de leur structure et de leurs caractéristiques physico-chimiques, toute modification induite par des traitements hydrothermiques ou chimiques est susceptible de générer de nouvelles fonctionnalités permettant de mieux répondre aux contraintes technologiques et exigences des industries de seconde transformation ; une des principales contraintes est la stabilité aux variations thermiques (stérilisation – congélation – décongélation), hydrodynamiques (cisaillement lors des transferts) et mécaniques

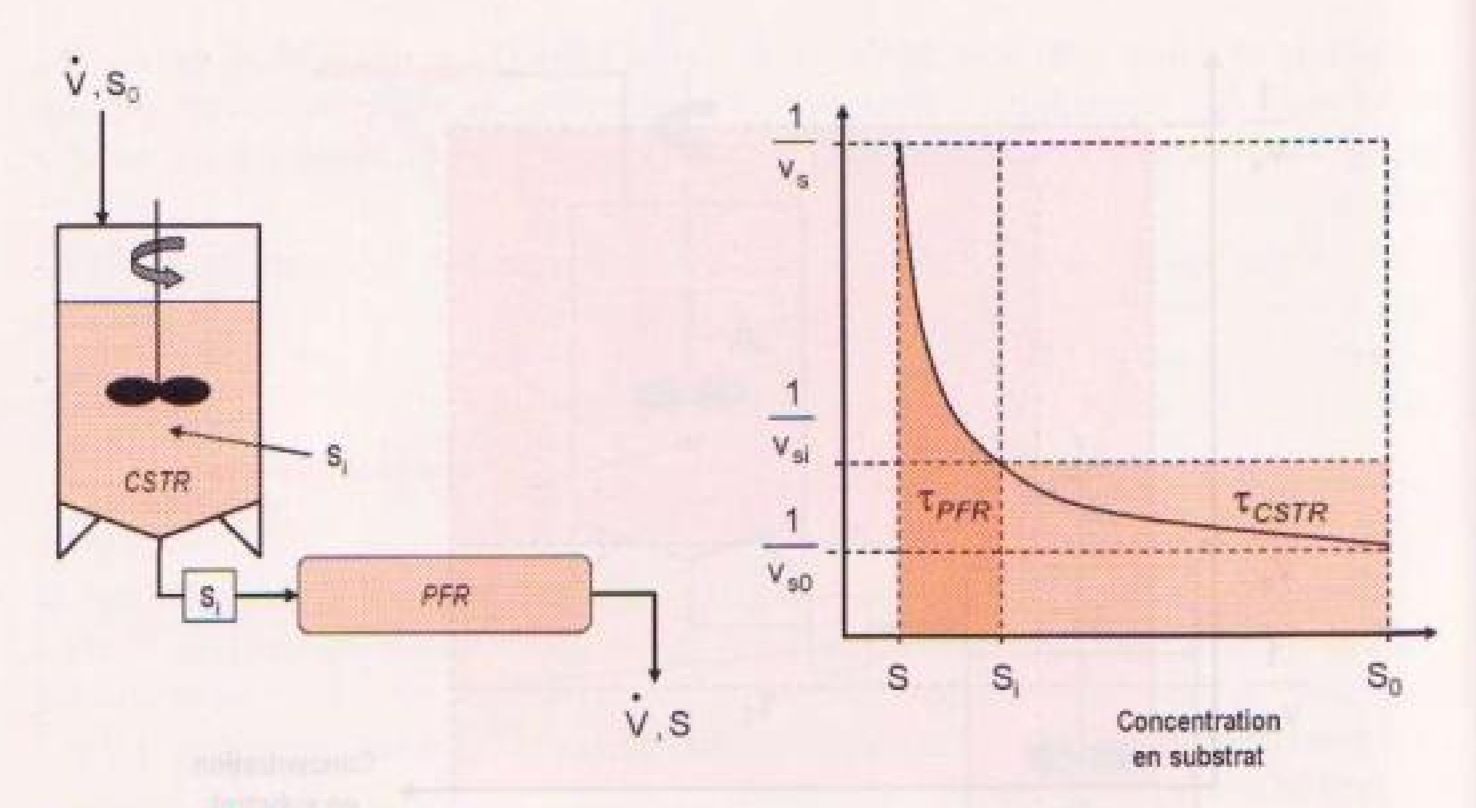


Figure 182 ■ Couplage CSTR-PFR.

(pompage) des systèmes dispersés et de leurs propriétés rhéologiques. Nous n'abordons ici que les principes directeurs des modifications physico-chimiques sachant que leur mise en œuvre sera traitée dans le prochain chapitre.

2.1. Traitements hydrothermiques et mécaniques

Ces traitements concernent principalement les macromolécules de nature glucidique et protéique.

Dans le cas des polysaccharides tels que l'amidon, les traitements thermiques ont un triple effet aux conséquences importantes en matière de fonctionnalité : déstructuration des formes cristalline, hydratation et hydrolyse. Comme nous l'avons vu dans le premier volume (cf. chapitre 2, §1.1.) l'amidon est constitué de deux types de polymères, l'amylose et l'amylopectine, qui sont des enchaînements d'unités glucoses reliés en α(1-4) pour le premier et en α(1-4) et α(1-6) pour le second ; dans leur structure native les amidons présentent une structure semi-cristalline qui mobilise une partie importante des groupements OH et limite en conséquence leur hydratation, leur pouvoir épaississant et gélifiant ainsi que leur sensibilité aux attaques enzymatiques, donc leur digestibilité. Les traitements thermiques des suspensions aqueuses d'amidon provoquent une désorganisation structurale et une décristallisation induisant une libération des groupements OH qui sont alors susceptibles de s'hydrater. Cela se traduit par un gonflement du grain et une augmentation de la viscosité du système dispersé : c'est le phénomène de gélatinisation. Les traitements thermiques, selon leur intensité et les conditions du milieu (teneur en eau, pH), peuvent provoquer l'hydrolyse de liaisons covalentes reliant les unités glucoses et conduire à la formation de glucose, maltose et dextrines très solubles mais aux propriétés rhéologiques faibles.

Lors du refroidissement de la dispersion d'amidon gélatinisé (appelée empois d'amidon), il peut se produire une recristallisation appelée rétrogradation avec des

conséquences importantes au niveau rhéologique ; ce phénomène est d'autant plus important que la cinétique de refroidissement est lente dans la zone de température supérieure à la température de transition vitreuse, laquelle dépend beaucoup de la teneur en eau (figure 183). Les propriétés fonctionnelles vont donc dépendre de la nature des amidons (rapport amylose/amylopectine), de l'intensité des traitements thermiques (température et durée de traitement), des cinétiques de montée en température et de refroidissement ainsi que des teneurs en eau. À l'action hydrothermique peut être couplée un effet cisaillement dans des traitements de type cuisson-extrusion ; ainsi des traitements de quelques dizaines de secondes en présence de 10 à 40 % d'eau à des températures supérieures à 200 °C et des pressions de cisaillement de 20 MPa sont couramment utilisés pour préparer des ingrédients destinés à l'élaboration des sauces, potages, boissons, etc.

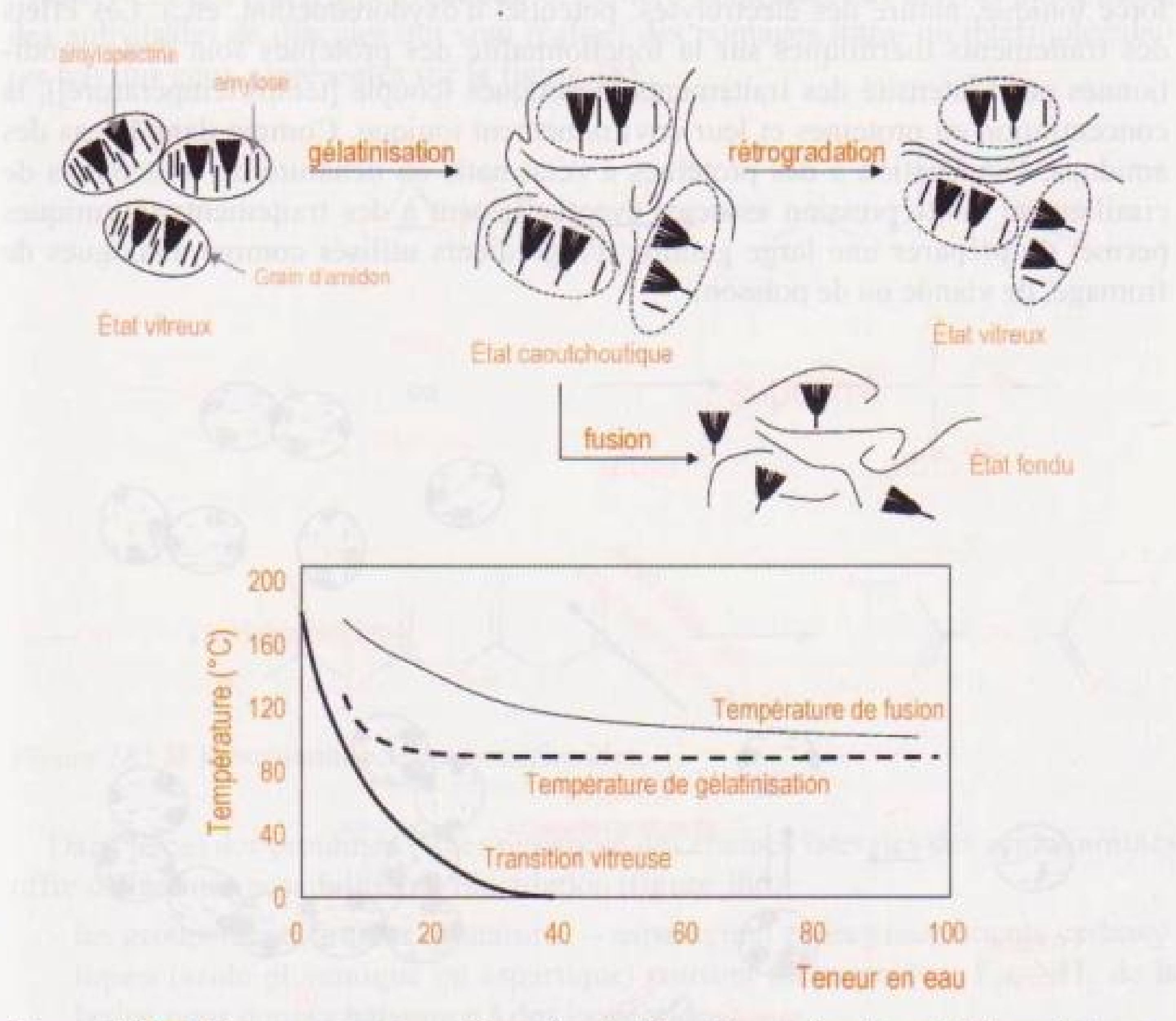


Figure 183 ■ Changements de conformation de l'amidon en fonction de la température.

La structure des macromolécules protéiques est également très sensible à l'action des traitements thermiques ; les liaisons impliquées dans les structures secondaires et tertiaires des protéines étant généralement de faible énergie (ioniques, hydrogènes, Van der Waals), les traitements thermiques sont susceptibles de les dissocier de façon plus ou moins réversible et en conséquence d'induire de nouvelles structures et fonctionnalités. La désorganisation structurale peut entraîner un accroissement de l'hydrophobie de surface et une plus grande réactivité, par démasquage des chaî-

nes latérales hydrophobes des acides aminés et des groupements thiols par exemple ; ces protéines dénaturées présentent de nouvelles caractéristiques physico-chimiques et propriétés fonctionnelles, telles que l'aptitude à s'agréger ou à gélifier à température ambiante dans des conditions de pH et de force ionique définies et la capacité à stabiliser des systèmes dispersés de type émulsion ou mousse.

Lors des traitements thermiques, les nouvelles structures peuvent simultanément s'associer ou polymériser du fait de leur réactivité accrue ; la maîtrise de la fonctionnalisation thermo-induite des protéines nécessite une bonne connaissance des différentes étapes de dénaturation et de leur cinétique (figure 184) ; les modifications de structure secondaire et tertiaire suivent en général des cinétiques d'ordre 1, alors que les phénomènes d'agrégation ou de polymérisation présentent des cinétiques d'ordre 2 très dépendantes des conditions physico-chimiques du milieu (pH, force ionique, nature des électrolytes, potentiel d'oxydoréduction, etc.). Les effets des traitements thermiques sur la fonctionnalité des protéines sont donc conditionnés par l'intensité des traitements thermiques (couple [temps/température]), la concentration en protéines et leur environnement ionique. Comme dans le cas des amidons, l'application à des protéines à l'état natif ou dénaturé de traitements de cisaillement haute pression associés éventuellement à des traitements thermiques permet de préparer une large gamme d'ingrédients utilisés comme analogues de fromage, de viande ou de poisson.

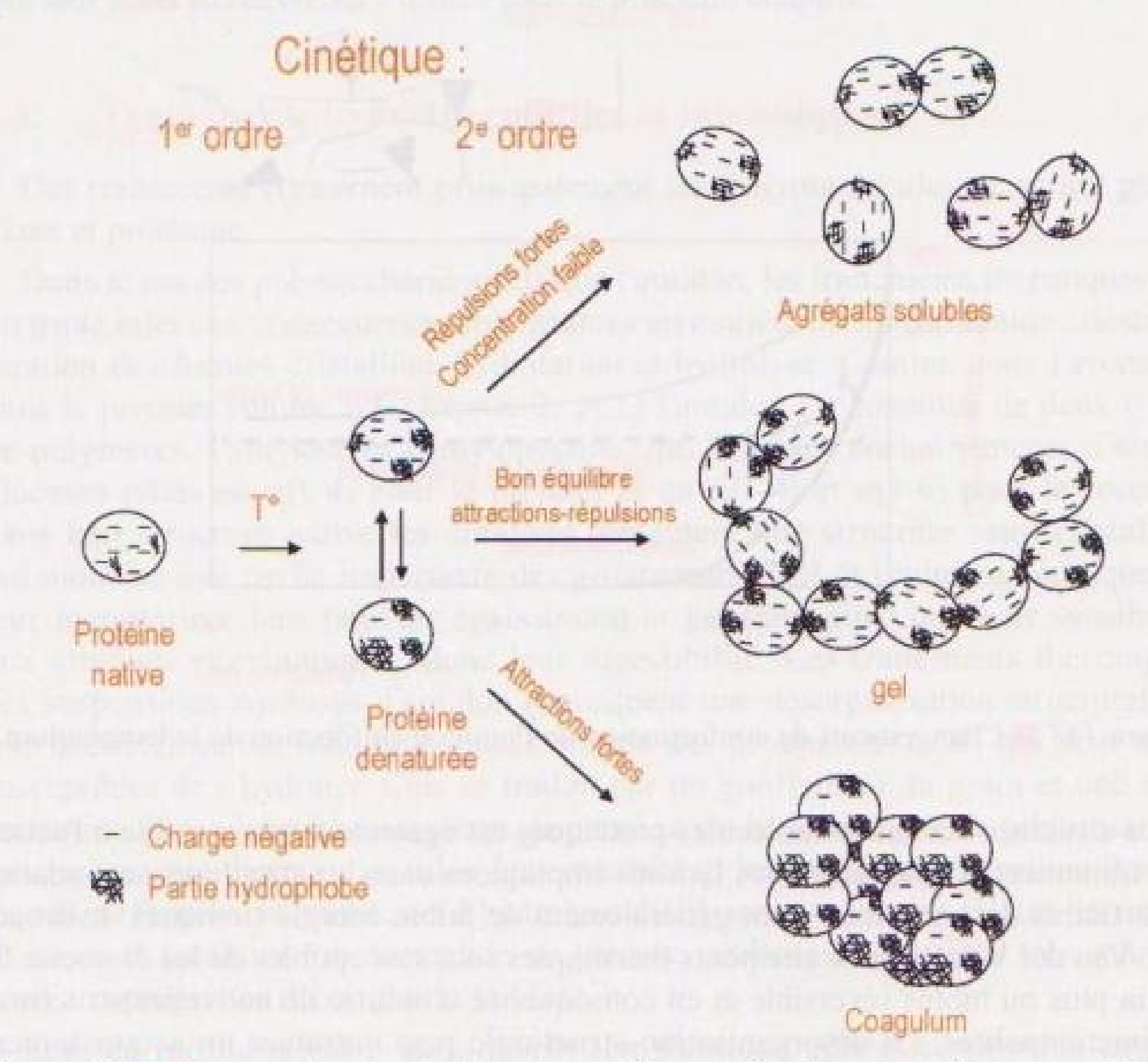


Figure 184 ■ Dénaturation/agrégation des protéines en fonction des traitements subis.

2.2. Réticulation des macromolécules

La réticulation des macromolécules consiste à créer de nouvelles liaisons intramoléculaires ou intermoléculaires pour générer de nouvelles propriétés rhéologiques ou pour améliorer leur stabilité à des traitements technologiques tels que les traitements haute température (stérilisation) ou à des conditions de milieu (pH acide) qui peuvent faciliter la rupture de liaisons covalentes. La réticulation peut être réalisée soit en exploitant l'inter réactivité des groupements fonctionnels de la macromolécule, soit par l'intermédiaire de réactifs chimiques capables d'interagir avec un groupement fonctionnel de la macromolécule.

Dans le domaine des polysaccharides de type amidon, la réticulation est obtenue à l'aide de réactifs bifonctionnels capables de réagir sur deux groupements hydroxyles ; ces réactifs peuvent être des chloro-époxydes, des dérivés phosphatés, des anhydrides de diacides qui vont réaliser des pontages intra- ou intermoléculaires tels que ceux représentés sur la figure 185.

Figure 185 ■ Réticulations des polysaccharides.

Dans le cas des protéines l'inter réactivité des chaînes latérales des acides aminés offre différentes possibilités de réticulation (figure 186) :

- les groupements amides (glutamine – asparagine) et les groupements carboxyliques (acide glutamique ou aspartique) peuvent interagir avec l' ε-NH_2 de la lysine pour donner naissance à des isopeptides ;
- la sérine (phosphosérine) ou la cystéine peuvent par β élimination conduire à la formation de déhydroalanine qui réagit avec des acides aminés basiques (lysine, arginine) ou la cystéine pour donner de la lysinoalanine, de l'ornithialanine et de la lanthionine ;
- les cystéines peuvent former un pont disulfure par oxydation ou, par attaque nucléophile d'un groupement thiol/thiolate sur un pont disulfure, générer un nouveau pont disulfure et un nouveau groupement thiol ;
- la tyrosine peut se dimériser par condensation de deux groupements phénols.

A—C(=O)—OH + H_2N—B → A—C(=O)—NH—B isopeptides
A—C(=O)—NH_2

A—CH_2–CH_2–OH → A—CH=CH_2 (déhydroalanine) + HS—B → A—CH_2—CH_2—S—B lanthionine
A—CH_2–CH_2–SH → A—CH=CH_2 (déhydroalanine) + H_2N—B → A—CH_2—CH_2—NH—B lysinoalanine

A—SH + HS—A → A—S—S—A

A—SH + B—S—S—B' → A—S—S—B' + B—SH ; B—S—S—A + HS—B'
cystine + cystéine

A–(phényl)–OH → dityrosyl

Figure 186 ■ Réticulations des protéines par interaction des chaînes latérales des acides aminés.

Ces types de réticulation sont favorisés suivant les cas dans des conditions oxydantes ou par les traitements thermiques lorsque les groupements aminés sont non protonés et les groupements thiol sous forme de thiolates : ils sont donc plus rapides à pH légèrement alcalin. Ce type d'interaction permet de générer de nouvelles fonctionnalités mais présente quelques inconvénients d'ordre nutritionnel car les nouvelles liaisons formées ne sont pas toujours biodégradables. Ces phénomènes de réticulation sont parfois subis, notamment lors des traitements thermiques des produits alimentaires dont le pH se situe légèrement au-dessus de la neutralité.

2.3. Greffage de groupements fonctionnels

Le greffage de groupements hydrophile ou hydrophobe, de caractère anionique ou cationique sur des polymères peut soit modifier leurs propriétés fonctionnelles, soit améliorer leur stabilité aux contraintes thermiques et/ou de cisaillement (figure 187).

Ainsi, l'acétylation et l'alkylation permettent de stabiliser les amidons notamment au froid en limitant leur rétrogradation.

Amidons hydroxyalkylés

A—OH + R—CH—CH$_2$ (époxyde, pont O) $\xrightarrow{HO^-}$ A—O—CH$_2$—CHOH—R

Amidons carboxylés

A—OH + Cl—CH$_2$—CO$_2$Na $\xrightarrow{HO^-}$ A—O—CH$_2$—CO$_2$Na

Amidons acétylés

A—OH + CH$_3$—C(=O)—O—C(=O)—CH$_3$ $\xrightarrow[\text{chaleur}]{HO^-}$ A—O—CO—CH$_3$

Figure 187 ■ Greffage de groupements fonctionnels sur l'amidon.

Dans le cas des protéines, il est possible de greffer des groupements fonctionnels pour améliorer leur solubilité et/ou leurs propriétés interfaciales ; une des réactions faciles à mettre en œuvre est basée sur la réactivité des amines (groupement ε-NH_2 de la lysine) vis-à-vis des carbonyls réducteurs des glucides (glucose, lactose, maltose, maltodextrine).

2.4. Hydrogénation

L'hydrogénation des bioconstituants concerne principalement deux types de biomolécules : les glucides réducteurs et les acides gras insaturés.

La réduction chimique des groupements carbonyles des glucides (glucose, galactose, fructose, mannose, xylose, maltose, lactose, etc.) permet de préparer des polyols (sorbitol, mannitol, xylitol, lactitol, maltitol, etc.) qui présentent l'intérêt d'être acaryogène et non insulinogène, et sont par conséquent utilisés dans les produits diététiques.

L'hydrogénation chimique des acides gras saturés a pour objectif principal de modifier les propriétés physico-chimiques des matières grasses, en permettant notamment l'augmentation des températures de fusion et la réduction de la sensibilité à l'action de l'oxygène. Ces transformations sont réalisées dans des réacteurs à hydrogène sous pression, en présence de catalyseurs (cuivre, nickel) et à des températures pouvant atteindre 200 °C.

11

Mise en œuvre des techniques séparatives

1. Protéines et peptides

1.1. Protéines et peptides issus du lait

Les protéines de lait présentent des caractéristiques nutritionnelles, organoleptiques et technologiques qui en font des ingrédients parfaitement adaptés pour une large gamme d'applications alimentaires (produits laitiers, crèmes glacées, pâtisserie, confiserie, charcuterie, sauces et potages, boissons, etc.). Ces protéines présentent une balance équilibrée en acides aminés et ne génèrent pas de défauts de goût ou de couleur dans les aliments qui les contiennent. Dans leur ensemble, les ingrédients laitiers présentent de bonnes propriétés de reconstitution et une bonne solubilité à la neutralité. Cependant certains traitements de préparation des ingrédients protéiques laitiers peuvent altérer leur solubilité. En général, les protéines laitières sont utilisées pour leur aptitude à structurer l'eau dans les aliments, leurs propriétés gélifiantes (par acidification, par action de la présure ou lors d'un traitement thermique) ou leurs propriétés interfaciales (émulsifiante et moussante).

Par ailleurs, certaines protéines ou fragments protéiques présentent des activités biologiques ou physiologiques :

– activité morphinomimétique (β-casomorphine, fragment 60-70 de la caséine β) ;
– activité antihypertensive (casokinines issus des caséines αs_1 et β) ;
– activité antithrombotique (fragment 106-116 de la caséine κ) ;
– activité immunomodulante (fragments des caséines β et κ) ;
– activité bactériostatique (lactoperoxydase, lactoferrine, glycomacropeptide, lactoferricine) ;
– activité de transport/adsorption des minéraux (phosphopeptides de la caséine αs, caséine β) ;
– activité de protection de molécules hydrophobes (β-lactoglobuline, sérum albumine bovine).

Le développement des techniques séparatives et les connaissances acquises sur les caractéristiques physico-chimiques des protéines de lait ou de leurs hydrolysats

ont permis l'avènement de nombreux procédés de purification basés sur des solubilités différentielles en fonction du pH, de la force ionique et/ou de la température, des différences de taille, de charge ou encore des affinités spécifiques (cf. chapitre 9). Un schéma général du fractionnement des principaux constituants protéiques du lait est donné sur la figure 188.

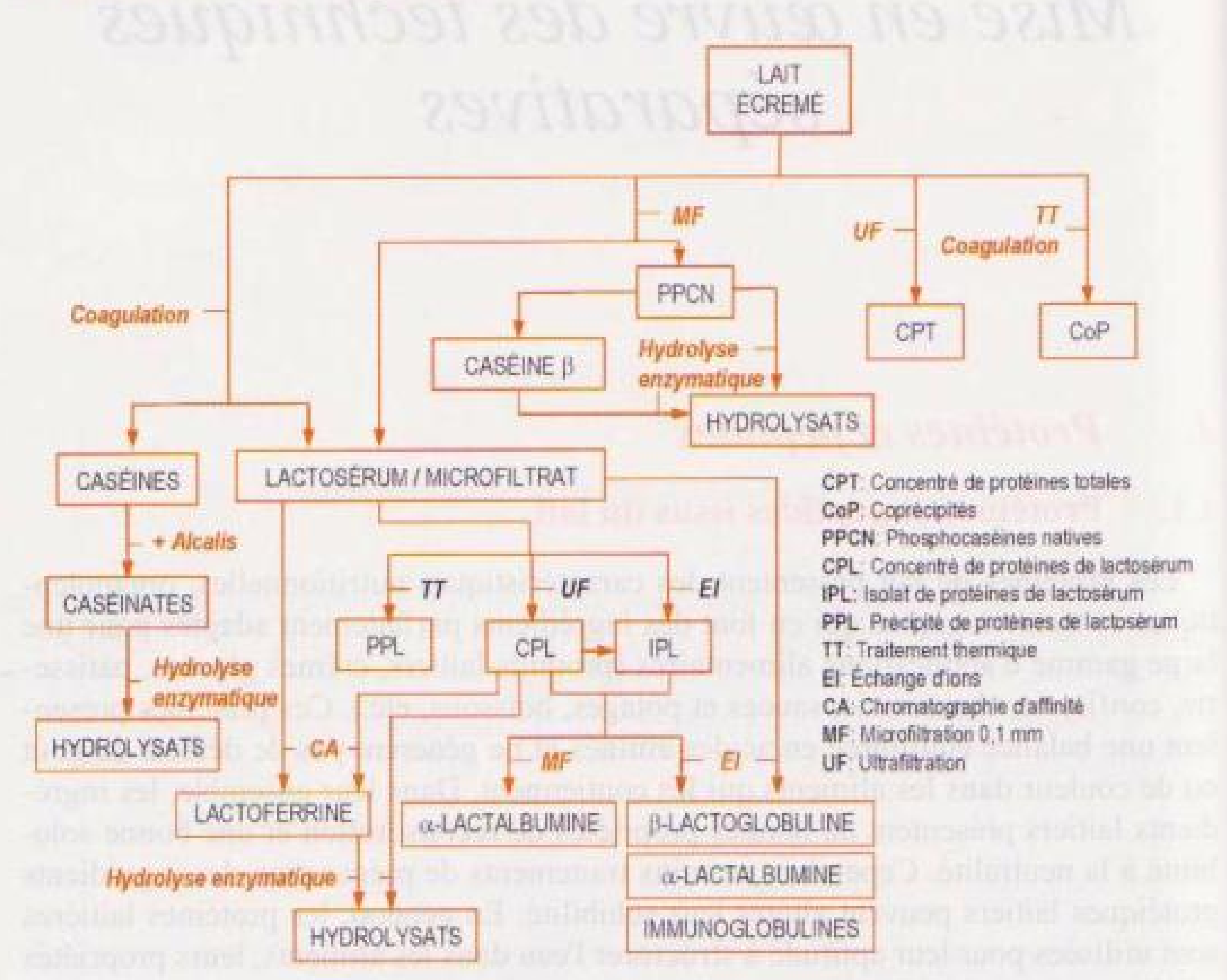


Figure 188 ■ Schéma général du fractionnement des principaux constituants protéiques du lait.

1.1.1. Concentrés de protéines totales

Les concentrés de protéines totales sont majoritairement obtenus à partir d'un lait préalablement écrémé soit par précipitation des protéines totales du lait soit par ultrafiltration.

Les coprécipités sont classiquement obtenus après traitement thermique (90 °C pendant quelques minutes) du lait écrémé à son pH naturel afin de dénaturer les protéines sériques. Ensuite, une acidification et/ou un ajout de calcium provoque l'agrégation et la précipitation simultanées des caséines et des protéines sériques (figure 189). Les coprécipités peuvent contenir des teneurs en calcium faibles (0,5-0,8 % p/p), moyennes (1,5 % environ) ou élevées (2,3 à 3 %) suivant les conditions de précipitation utilisées (pH et quantités de calcium ajoutées avant ou après le traitement thermique) ; la baisse de pH favorise la libération du calcium des complexes protéiques et la solubilisation des sels phosphocalciques qui sont alors éliminés dans le sérum. Les rendements d'extraction des coprécipités de protéines totales du lait sont généralement supérieurs à 90 %. Leur solubilité dans l'eau est faible et

inversement proportionnelle à leur teneur en calcium ; cependant, les coprécipités peuvent être partiellement solubilisés à pH alcalin en présence de complexant du calcium.

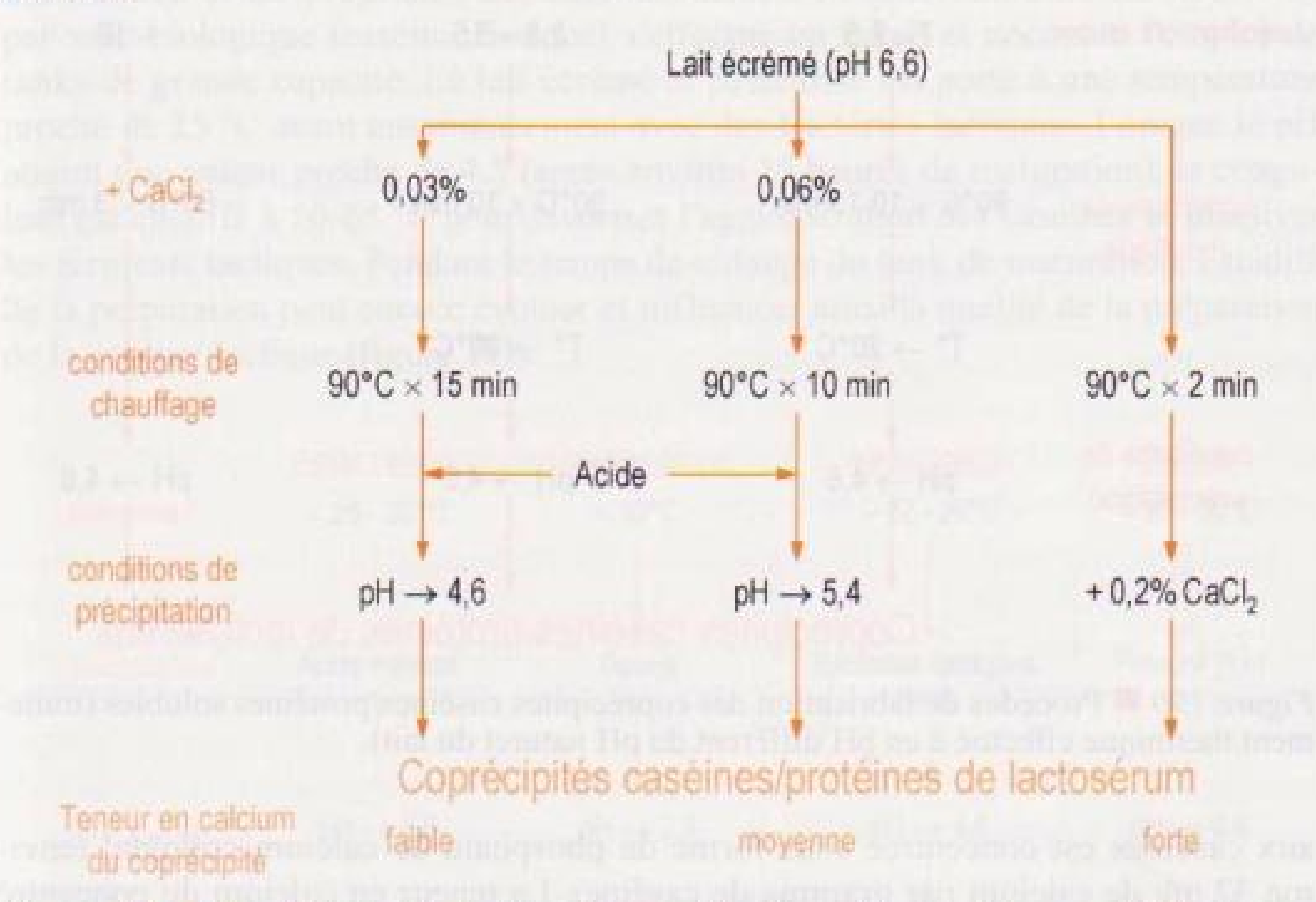


Figure 189 ■ Procédés de fabrication des coprécipités caséines/protéines solubles (traitement thermique effectué au pH naturel du lait).

Les propriétés fonctionnelles des coprécipités de protéines totales peuvent être améliorées en modifiant le pH du lait écrémé avant traitement thermique (figure 190). Des coprécipités partiellement solubles à pH neutres sont obtenus en appliquant un traitement thermique au lait écrémé ajusté à pH 7-7,5. Les complexes ainsi formés sont de plus petite taille, et la précipitation à pH 4,6 permet de solubiliser le calcium. D'autres procédés de fabrication des coprécipités mettent en œuvre des traitements thermiques sur du lait écrémé ajusté à des pH plus extrêmes (pH 3 ou 10). Quel que soit le procédé de fabrication utilisé, les coprécipités sont séparés du sérum par filtration sur tamis ou décantation, puis lavés et séchés. Les sérums acides et fortement minéralisés obtenus au cours de ces procédés sont difficiles à valoriser.

L'ultrafiltration permet de concentrer les protéines totales du lait écrémé sans dénaturation jusqu'à un facteur de concentration de l'ordre de 6, ce qui correspond à des concentrations en protéines de l'ordre de 18 % et à des teneurs en protéines sur base sèche de 50 à 70 %. Au-delà de ce facteur de concentration, l'augmentation de viscosité du concentré entraîne des pertes de charges importantes et des chutes de débit de perméation. Pour accroître le degré de pureté des protéines concentrées, il est nécessaire de recourir à une diafiltration (cf. chapitre 9, § 2.2.1.) qui permet de réduire la teneur en lactose et en minéraux solubles du concentré et d'obtenir des ingrédients dont la teneur en protéines atteint jusqu'à 90 % sur base sèche. Lorsque la filtration est réalisée au pH du lait, une large part du calcium et du phosphore liée

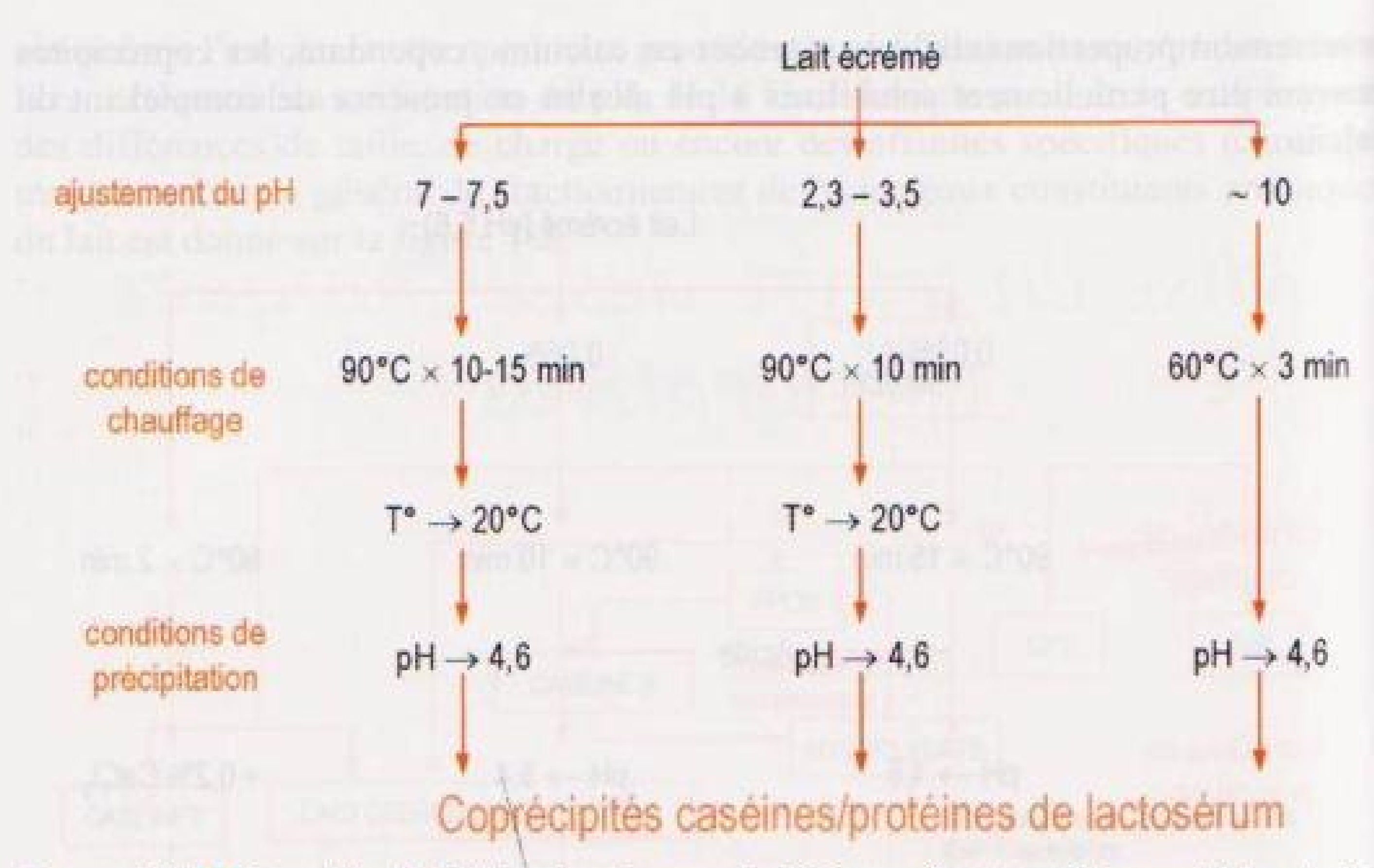


Figure 190 ■ Procédés de fabrication des coprécipités caséines/protéines solubles (traitement thermique effectué à un pH différent du pH naturel du lait).

aux caséines est concentrée sous forme de phosphate de calcium colloïdal (environ 32 mg de calcium par gramme de caséine). La teneur en calcium du concentré peut être réduite en abaissant le pH avant filtration, ce qui permet de solubiliser une partie du phosphate de calcium colloïdal. Cependant, la moins bonne stabilité thermique et l'augmentation de viscosité qui résultent de la baisse de pH au-dessous de 5,6 peuvent constituer des facteurs limitants de la filtration. Après filtration, les concentrés de protéines totales sont pasteurisés puis séchés par atomisation. Durant ces étapes, une fraction de protéines sériques est dénaturée. Cette fraction est d'autant plus importante que la teneur en protéines du concentré est élevée. Le coproduit (perméat) peut être concentré et séché. Les concentrés obtenus par ultrafiltration présentent de meilleures propriétés fonctionnelles que les coprécipités car le mode de concentration n'affecte pas la structure des protéines, les caractéristiques de la phase solvante (pH, force ionique) restant inchangées.

1.1.2. Caséines totales (caséines/caséinates)

Les caséines totales peuvent être obtenues à partir du lait écrémé par déstabilisation des micelles de caséines soit par acidification (caséine acide), soit par action de la présure (caséine présure). La conversion des caséines acides en caséinates s'obtient par neutralisation. Ces modes de préparation modifient la fonctionnalité des micelles de caséines natives du lait, ce qui est parfois considéré comme un inconvénient (en fromagerie par exemple). La microfiltration 0,1 µm est une alternative permettant d'obtenir des phosphocaséines natives qui possèdent les mêmes propriétés que les micelles de caséine du lait.

Les caséines acides sont obtenues par précipitation des caséines à leur point isoélectrique (pH 4,6) à l'aide d'agents biologiques (bactéries lactiques), chimiques

(acide chlorhydrique, acide sulfurique) ou de résines échangeuses d'ions. Le pH final de précipitation et la température d'acidification influent sur les rendements d'extraction et les propriétés des caséines acides. La fabrication de caséine acide par voie biologique (caséine lactique) s'effectue en batch et nécessite l'emploi de tanks de grande capacité. Le lait écrémé et pasteurisé est porté à une température proche de 25 °C avant ensemencement avec des bactéries lactiques. Lorsque le pH atteint une valeur proche de 4,5 (après environ 15 heures de maturation), le coagulum est chauffé à 50-65 °C pour favoriser l'agglomération des caséines et inactiver les ferments lactiques. Pendant le temps de vidange du tank de maturation, l'acidité de la préparation peut encore évoluer et influencer ainsi la qualité de la préparation de la caséine lactique (figure 191).

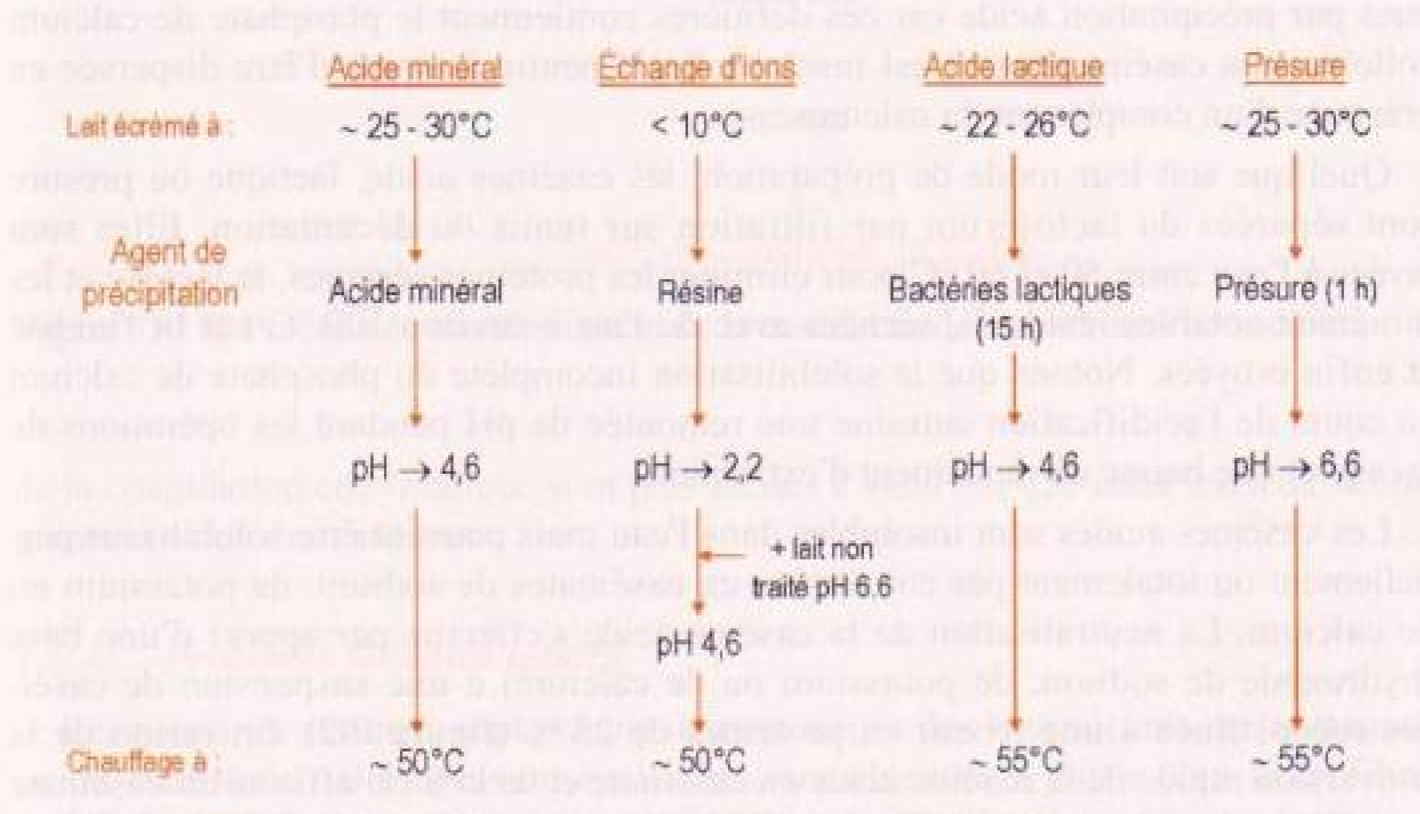


Figure 191 ■ Procédés de fabrication des caséines acides et présure.

L'utilisation d'acides minéraux est beaucoup plus souple que celle d'agents biologiques, notamment en matière de choix de la température d'acidification (qui affecte les propriétés des caséines acides) et de continuité du procédé de précipitation des caséines. Les températures d'acidification inférieure à 10 °C favorisent les agrégats fins et de faible charge minérale alors que les températures plus élevées (40-45 °C), engendrent des agrégats plus grossiers et de charge minérale plus élevée. L'acide minéral est mélangé au lait écrémé préalablement ajusté à la température d'acidification souhaitée. Lorsque le pH atteint une valeur proche de 4,3-4,4, le mélange est chauffé à 45-55 °C pour induire la floculation des caséines (figure 191).

L'inconvénient majeur résultant de la déstabilisation des micelles de caséine par un acidifiant chimique ou biologique est l'obtention d'un lactosérum très acide, riche en minéraux et difficile à valoriser. Une alternative est l'utilisation de résines en échange d'ions qui libèrent dans le milieu des protons assurant la déstabilisation des micelles de caséines sans apport d'anions solubles. Parallèlement, elles fixent une partie des cations ce qui diminue considérablement la charge minérale du lactosérum. Les résines sont utilisées soit pour induire une acidification partielle du lait

écrémé (pH 5,2) qui après séparation des résines est complétée par une acidification chimique jusqu'à pH 4,6, soit pour abaisser le pH du lait jusqu'à 2,5 qui est ensuite mélangé avec du lait écrémé (pH 6,6) afin d'atteindre le pH de précipitation des caséines (figure 191) ; le lait acidifié doit être séparé de la résine avant précipitation des caséines. Les sérums acides ainsi obtenus sont faiblement minéralisés, ce qui facilite leur valorisation.

Le mode de préparation de la caséine présure dérive de la fabrication des fromages à pâte cuite. Les caséines sont déstabilisées en présence de chymosine à environ 30-35 °C. Après coagulation, le gel est découpé et chauffé à environ 60 °C par injection directe de vapeur pour inactiver l'enzyme et permettre l'expulsion du sérum (figure 191). Les propriétés de la caséine présure diffèrent de celles obtenues par précipitation acide car ces dernières contiennent le phosphate de calcium colloïdal. La caséine présure est insoluble à pH neutre à moins d'être dispersée en présence d'un complexant du calcium.

Quel que soit leur mode de préparation, les caséines acide, lactique ou présure sont séparées du lactosérum par filtration sur tamis ou décantation. Elles sont lavées à l'eau entre 50 et 60 °C pour éliminer les protéines sériques, le lactose et les minéraux solubles résiduels, séchées avec de l'air à environ 100 °C sur lit fluidisé et enfin broyées. Notons que la solubilisation incomplète du phosphate de calcium au cours de l'acidification entraîne une remontée de pH pendant les opérations de lavage et une baisse de rendement d'extraction.

Les caséines acides sont insolubles dans l'eau mais peuvent être solubilisées partiellement ou totalement par conversion en caséinates de sodium, de potassium ou de calcium. La neutralisation de la caséine acide s'effectue par apport d'une base (hydroxyde de sodium, de potassium ou de calcium) à une suspension de caséines reconstituée à une teneur en protéines de 25 % (figure 192). En raison de la conversion rapide de la caséine acide en caséinate et de la forte affinité du caséinate pour l'eau, il se forme une pellicule gélifiée à la surface des agrégats qui ralentit la pénétration de la solution alcaline. Ainsi, un broyage fin est pratiqué afin d'accroître la surface de contact avec la solution alcaline. La conversion de la caséine en caséinate s'accompagne d'une forte augmentation de viscosité, notamment dans le cas du caséinate de sodium ; cette augmentation peut être limitée par accroissement de la température à 70-80 °C, ce qui permet également de préparer le caséinate de sodium au séchage par atomisation. Pour la préparation du caséinate de calcium, la température ne doit pas dépasser 40 °C pendant la durée du traitement afin d'éviter la formation d'un gel. L'eau ajoutée pour mettre en suspension la caséine avant conversion en caséinate doit ensuite être éliminée, ce qui augmente le coût de production de l'ingrédient. Pour diminuer ce coût, une alternative consiste à sécher par détente (attrition) un mélange de caséine acide (teneur en protéine proche de 60 %) et de carbonate de sodium (Na_2CO_3). Les qualités nutritionnelles et fonctionnelles des caséinates obtenus lors du séchage par attrition sont différentes de celles obtenues lors d'un séchage par atomisation.

La microfiltration du lait écrémé (diamètre des pores de la membrane : 10^{-7} m) associée à une diafiltration permet d'obtenir des concentrés pouvant contenir jusqu'à 95 % de phosphocaséine native. En raison de leur pH (neutre) et de leur faible charge minérale, les coproduits obtenus dans le cas de la microfiltration du lait ou

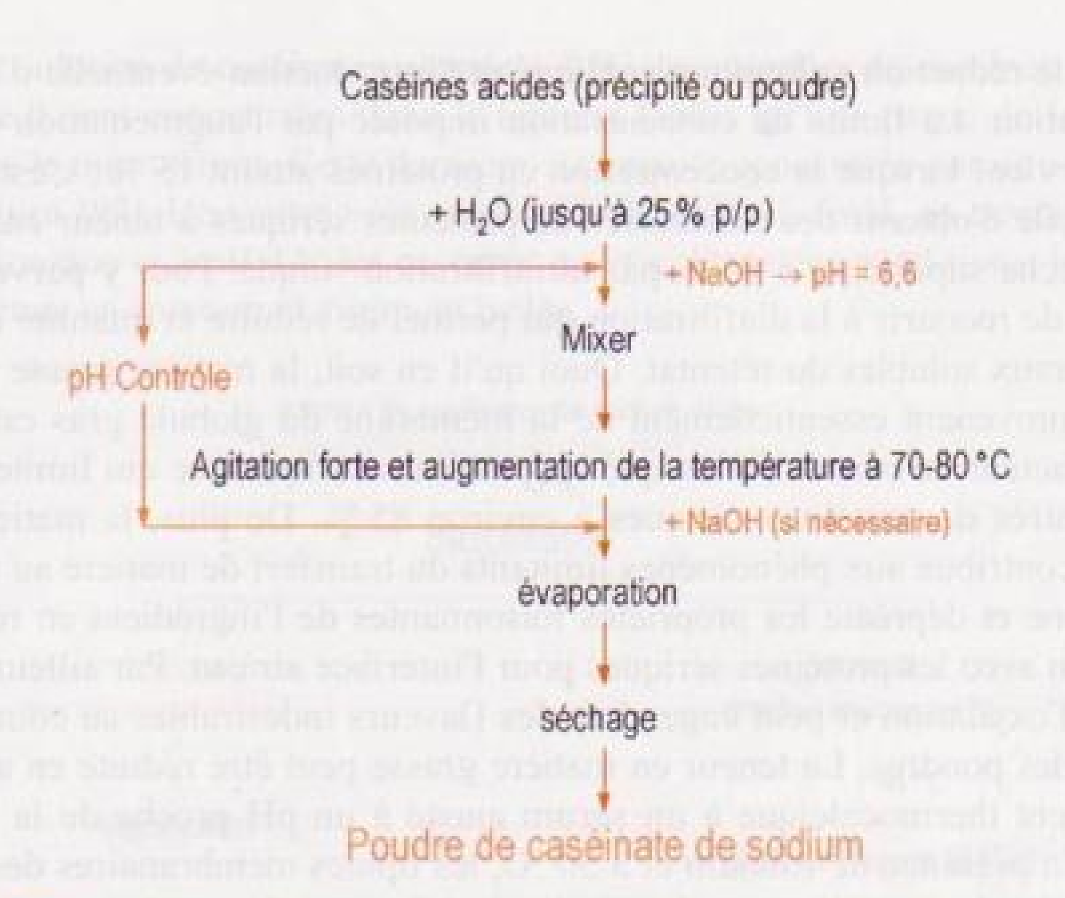


Figure 192 ■ Procédé de transformation de la caséine acide en caséinate de sodium.

de la coagulation enzymatique sont plus faciles à valoriser que ceux issus de la coagulation acide des caséines.

1.1.3. Protéines solubles totales

Les protéines sériques sont principalement issues des lactosérums de fromagerie ou de caséinerie ; elles peuvent également être obtenues à partir d'un microfiltrat de lait écrémé. Leur concentration s'effectue par ultrafiltration et leur extraction à l'aide de résines échangeuse d'ions. Il est également possible de les récupérer après dénaturation thermique.

Lorsqu'elles sont dénaturées, les protéines du lactosérum sont insolubles à leur point isoélectrique (pH 4,5 à 5,0) : ainsi, l'application d'un traitement thermique intense (90 °C pendant 3 à 5 min) combiné à un ajustement du pH entre 4,5 et 5,0 permet de précipiter 90 à 95 % des protéines qui sont récupérées par décantation ou centrifugation. Le précipité est ensuite lavé à l'eau pour éliminer les sels et le lactose inclus dans les interstices des agrégats, puis séché sur lit fluidisé. Les protéines sériques obtenues par dénaturation thermique sont généralement difficiles à resolubiliser, en particulier si le pH utilisé pour le traitement thermique est supérieur à 6, car la formation d'agrégats par interactions covalentes des acides aminés soufrés est alors favorisée. La solubilité des protéines sériques peut être améliorée en réalisant un traitement thermique à pH 2,5-3,5 suivi d'un ajustement du pH entre 4,5 et 5 car les agrégats formés sont plus fins. Cependant leur récupération est plus difficile ce qui réduit les rendements d'extraction.

Contrairement au traitement précédent, l'ultrafiltration préserve l'état natif et les propriétés nutritionnelles et technologiques originelles des protéines sériques. La teneur en protéines sériques par rapport à la matière sèche varie de 35 à 85 %, selon

le facteur de réduction volumique appliqué et l'introduction éventuelle d'une étape de diafiltration. La limite de concentration imposée par l'augmentation de la viscosité intervient lorsque la concentration en protéines atteint 15 % ; c'est pourquoi il est difficile d'obtenir des concentrés de protéines sériques à teneur en protéines sur base sèche supérieure à 65 % par ultrafiltration simple. Pour y parvenir, il est nécessaire de recourir à la diafiltration qui permet de réduire la quantité de lactose et de minéraux solubles du rétentat. Quoi qu'il en soit, la matière grasse résiduelle du sérum provenant essentiellement de la membrane du globule gras est soumise au même facteur de concentration que les protéines sériques, ce qui limite la pureté des concentrés de protéines sériques à environ 85 %. De plus, la matière grasse résiduelle contribue aux phénomènes limitants du transfert de matière au travers de la membrane et déprécie les propriétés foisonnantes de l'ingrédient en rentrant en compétition avec les protéines sériques pour l'interface air/eau. Par ailleurs, elle est sensible à l'oxydation et peut engendrer des flaveurs indésirables au cours de l'entreposage des poudres. La teneur en matière grasse peut être réduite en appliquant un traitement thermocalcique à un sérum ajusté à un pH proche de la neutralité (6,5-7,5). En présence de calcium et à 50 °C, les lipides membranaires des globules gras (phosphoglycoprotéines et phospholipides) forment des agrégats qui sont alors éliminés par microfiltration ou centrifugation.

La chromatographie d'échange d'ions permet d'obtenir des isolats de protéines sériques dont la teneur en protéines est supérieure à 90 %. Dans le procédé Sphérosil®, les protéines du lactosérum chargées négativement à pH 6,5 (β-lactoglobuline, α-lactalbumine) sont retenues sur une résine en échange d'anions. Le lactose et les protéines du lactosérum chargées positivement à pH 6,5 (environ 10 % des protéines du lactosérum) traversent la résine sans être retenus. Par modification des conditions de solvant (diminution du pH, augmentation de la force ionique), les protéines préalablement fixées sur la résine en échange d'anions sont éluées. Elles sont ensuite concentrées par ultrafiltration avant d'être séchées. Le montage en série d'une résine d'échange d'anions et d'une résine d'échange de cations permet de récupérer sur la seconde les protéines du lactosérum chargées positivement à pH 6,6 (lactoferrine, immunoglobuline et lactoperoxydase).

1.1.4. Protéines individuelles

Certaines protéines ou fragments de protéines du lait présentent des propriétés nutritionnelles, biologiques ou technologiques spécifiques qu'il est intéressant d'exploiter. Des procédures de purification ont été développées pour la préparation de ces ingrédients destinés à des applications à forte valeur ajoutée. La séparation des différentes caséines du lait (αs1, αs2, β, κ) constitue le point de départ de la préparation de peptides particuliers. Des procédures de purification ont également été mises en place pour fractionner des protéines majeures du lactosérum (β-lactoglobuline et α-lactalbumine) et pour isoler les protéines mineures telles la lactoferrine, la lactoperoxydase ou encore les immunoglobulines qui présentent des activités biologiques.

À basse température, la caséine β a tendance à se dissocier de la micelle de caséines par affaiblissement des liaisons hydrophobes. Ainsi en réalisant la microfiltra-

tion d'une solution de caséinates ajustée à 2 °C, les micelles de caséines appauvries en caséine β sont concentrées dans le rétentat tandis qu'une partie de la caséine β passe dans le microfiltrat. Cette dernière est ensuite concentrée par ultrafiltration à 40 °C (figure 193). Une autre voie consiste à précipiter à froid, en condition de faible force ionique et à pH 4,6, les caséines αs et κ. Dans ces conditions, la caséine β est maintenue en solution et aisément isolée.

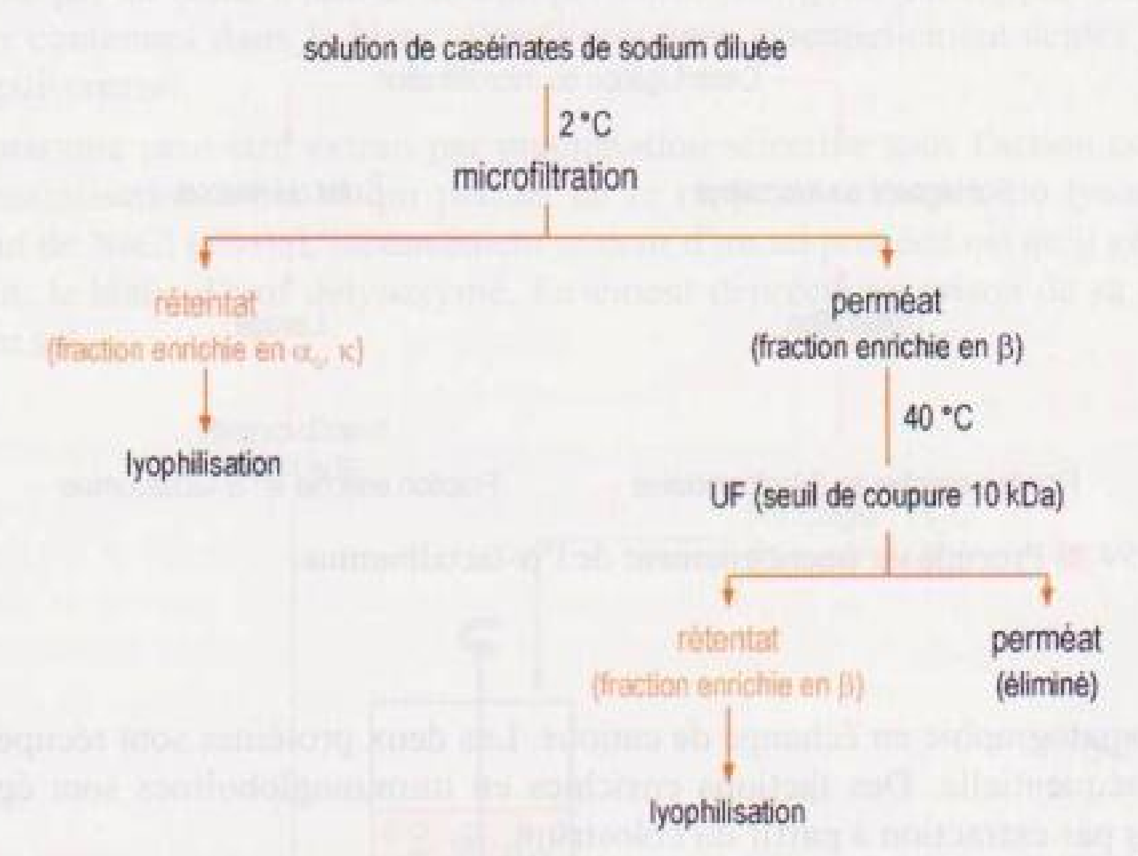


Figure 193 ■ Procédé de séparation des caséines.

La séparation des protéines majeures du lactosérum (β-lactoglobuline et α-lactalbumine) s'effectue soit par chromatographie en échange d'ions, soit par précipitation sélective de l'α-lactalbumine. De façon générale, la β-lactoglobuline s'adsorbe plus fortement que les autres protéines sériques sur les résines en échange d'anions. En condition de chargement compétitif, la β-lactoglobuline déplace l'α-lactalbumine sur l'échangeur ; l'α-lactalbumine est alors éluée tandis que la β-lactoglobuline se concentre sur l'échangeur. Après lavage de la colonne, la β-lactoglobuline est éluée en modifiant les caractéristiques de la phase éluante (modification de pH ou ajout de sels).

Une autre procédure est basée sur les propriétés d'agrégation de l'α-lactalbumine à pH acide (inférieur à 4) et à 55 °C (figure 194). Dans les conditions physiologiques, l' α-lactalbumine fixe un ion calcium qui est libéré de la protéine pour des valeurs de pH inférieures à 4. L'apo-lactalbumine (dépourvue de calcium) se dénature et s'agrège de manière réversible lors d'une élévation de la température entre 50 et 60 °C. Ces conditions n'affectent pas la β-lactoglobuline qui reste soluble. Les agrégats d'α-lactalbumine sont récupérés par centrifugation ou par microfiltration. L'α-lactalbumine retrouve sa conformation initiale par augmentation de pH et baisse de la température.

Contrairement aux protéines majeures du lactosérum, la lactoferrine et la lactoperoxydase possèdent une charge positive à pH neutre. Leur extraction est réalisée

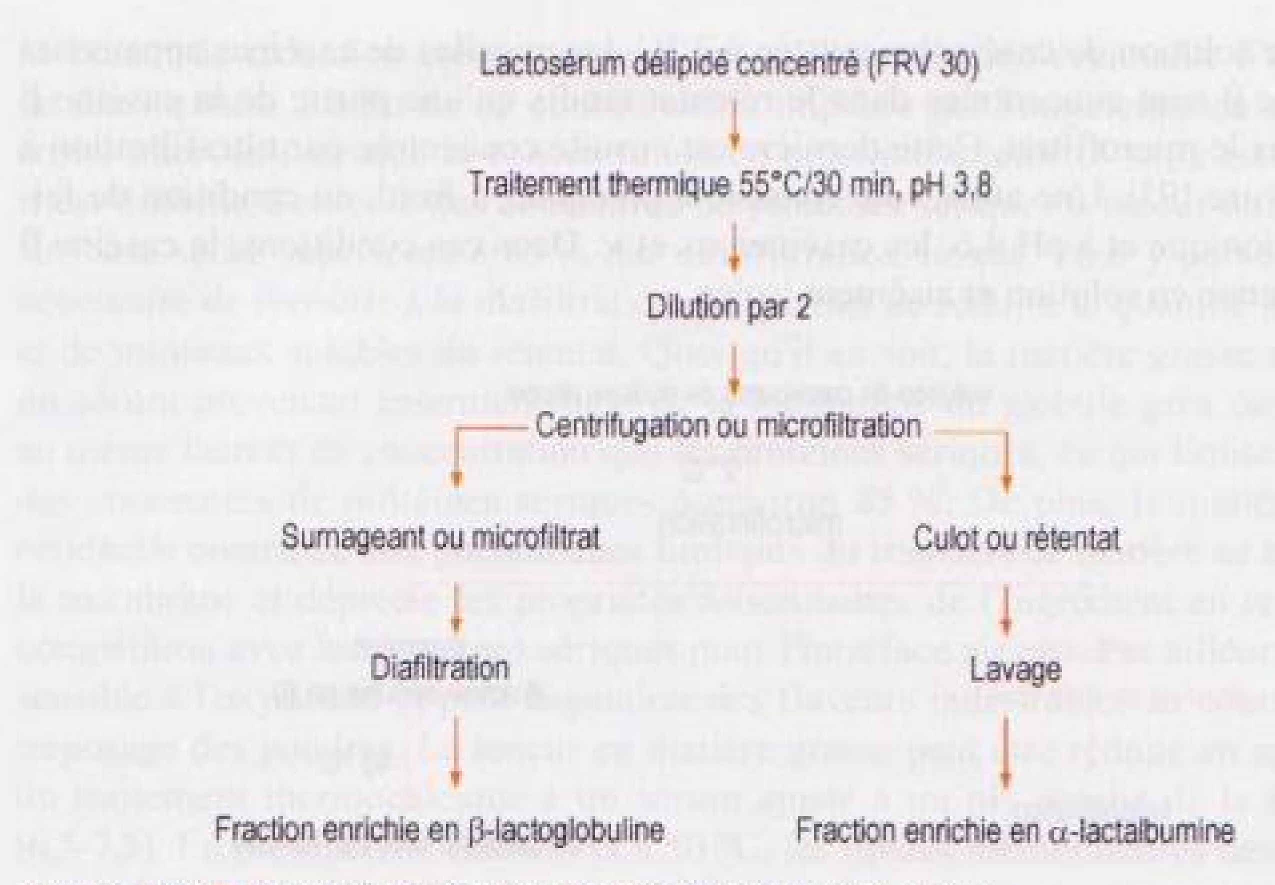


Figure 194 ■ Procédé de fractionnement de l'α-lactalbumine.

par chromatographie en échange de cations. Les deux protéines sont récupérées par élution séquentielle. Des factions enrichies en immunoglobulines sont également obtenues par extraction à partir du colostrum.

1.1.5. Peptides bioactifs

Les peptides bioactifs sont définis comme des fragments de protéines ayant un impact positif sur les fonctions de l'organisme et sur la santé (action sur les systèmes cardiovasculaire, digestif, immunitaire, nerveux ; réduction des risques de maladie chronique, etc.). De nombreux peptides bioactifs ont été identifiés dans les hydrolysats de protéines laitières ou les produits laitiers fermentés. Industriellement, ils sont générés à partir des protéines de laits (en mélange ou individualisées) par hydrolyse enzymatique à l'aide d'enzymes digestives (pepsine, trypsine) ou de protéases extraites de micro-organismes et de plantes ou encore par des micro-organismes protéolytiques (ces derniers sont toutefois moins souvent utilisés). L'hydrolyse enzymatique peut s'effectuer en continu dans des réacteurs couplés à une membrane d'ultrafiltration qui permet d'éliminer les produits d'hydrolyse du réacteur enzymatique au cours de la réaction alors que l'enzyme et le substrat restent confinés dans un volume restreint (cf. chapitre 10, § 1.3.3.). Le rapport enzyme/substrat, le pH, la température et le temps d'hydrolyse sont les principaux facteurs pour contrôler le taux d'hydrolyse. Les hydrolysats sont ensuite fractionnés en se basant sur les caractéristiques physico-chimiques des peptides (taille, charge, hydrophobie, affinité spécifique). Par exemple, la séparation et la purification des phosphopeptides sont basées sur leur propriété à chélater le calcium, et donc à s'agréger tout en restant solubles, ce qui permet de les séparer des peptides non phosphorylés par ultrafiltration.

1.2. Extraction du lysozyme à partir du blanc d'œuf

Parmi les nombreuses protéines d'œuf seul le lysozyme est extrait industriellement pour des applications dans le domaine agroalimentaire et pharmaceutique où il est utilisé pour ses propriétés antibactériennes. Pour l'extraction, les propriétés basiques du lysozyme sont mises à profit. Son pH_i de 11 lui confère une charge positive au pH du blanc d'œuf et un comportement marginal par rapport aux autres protéines contenues dans le blanc d'œuf (protéines essentiellement acides et chargées négativement).

Le lysozyme peut être extrait par précipitation sélective sous l'action combinée d'une neutralisation à pH 10 qui permet de se rapprocher du pH_i du lysozyme et d'un ajout de NaCl (5 %). L'inconvénient majeur d'un tel procédé est qu'il génère un coproduit, le blanc d'œuf délysozymé, fortement déprécié en raison de sa concentration en sel.

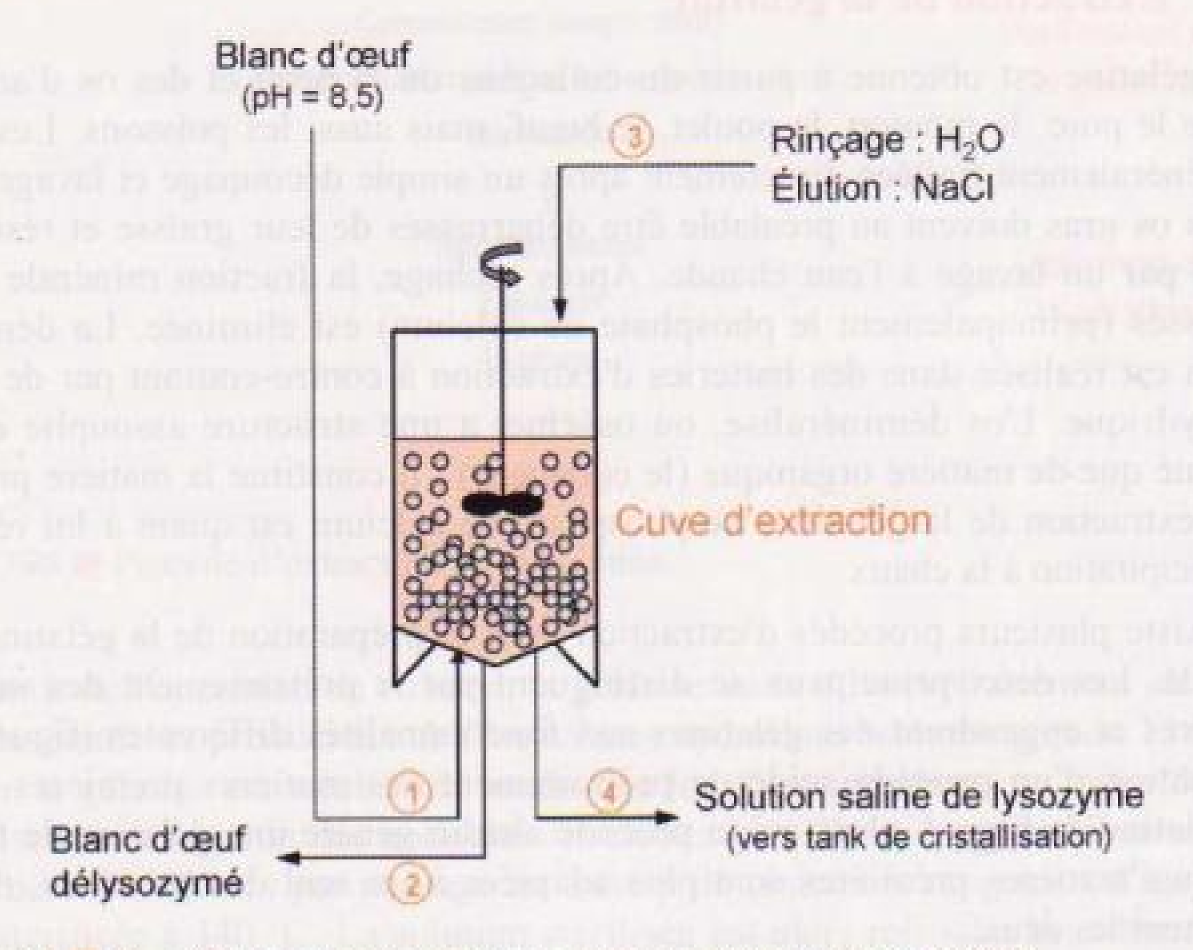


Figure 195 ■ Procédé d'extraction du lysozyme à partir du blanc d'œuf.

L'extraction du lysozyme à partir de blanc d'œuf peut également s'effectuer par échange d'ions (figure 195). Le blanc d'œuf ajusté à pH 8,5 à l'aide d'acide citrique est introduit par sa partie inférieure dans une cuve d'extraction contenant la résine d'échange de cations. L'agitation de la cuve d'extraction permet de maintenir les billes de résine en suspension dans le blanc d'œuf et d'optimiser la fixation du lysozyme. Après quelques minutes d'agitation, le blanc d'œuf délysozymé est évacué par le bas de la cuve d'extraction et les billes de résine sont rincées à l'eau. La cuve d'extraction est alors alimentée par une solution saline afin de décrocher le lysozyme des billes de résine et ainsi assurer son élution. Le rendement d'extraction peut être amélioré en réalisant deux ou trois batchs successifs (cf. chapitre 9, § 3.2.2.). La solution saline contenant le lysozyme, mais aussi des protéines conta-

minantes, est alors dirigée vers un tank qui sera utilisé pour assurer la cristallisation du lysozyme et augmenter son taux de pureté. Pour la cristallisation du lysozyme, le pH de la solution est ajusté à environ 10 avec de la soude. La cristallisation est déclenchée par ajout de fins cristaux de lysozyme issus d'une cristallisation précédente et la solution saline est progressivement refroidie. Après une dizaine d'heures, les cristaux de lysozyme sont séparés de la solution saline par filtration sur filtre-presse. Plusieurs cycles de solubilisation du gâteau de cristaux de lysozyme à pH légèrement acide (environ 6) et à une température de 20 °C suivie d'une nouvelle cristallisation à pH 10 peuvent être pratiqués afin d'éliminer les protéines contaminantes résiduelles et d'améliorer la pureté du lysozyme. Lorsque celle-ci est satisfaisante, le gâteau de lysozyme est solubilisé à pH acide (environ 3) à l'aide d'HCl, concentré par ultrafiltration puis séché sous forme de chlorhydrate.

1.3. Extraction de la gélatine

La gélatine est obtenue à partir du collagène de la peau et des os d'animaux comme le porc, le mouton, le poulet, le bœuf, mais aussi les poissons. Les peaux sont généralement traitées directement après un simple découpage et lavage tandis que les os gras doivent au préalable être débarrassés de leur graisse et résidus de viande par un lavage à l'eau chaude. Après séchage, la fraction minérale des os dégraissés (principalement le phosphate de calcium) est éliminée. La déminéralisation est réalisée dans des batteries d'extraction à contre-courant par de l'acide chlorhydrique. L'os déminéralisé, ou osséine, a une structure assouplie et n'est constitué que de matière organique (le collagène) ; il constitue la matière première pour l'extraction de la gélatine. Le phosphate de calcium est quant à lui récupéré par précipitation à la chaux.

Il existe plusieurs procédés d'extraction pour la préparation de la gélatine commerciale. Les deux principaux se distinguent par le prétraitement des matières premières et engendrent des gélatines aux fonctionnalités différentes (figure 196). L'utilisation d'un procédé acide de prétraitement des matières premières génère une gélatine de type A alors qu'un procédé alcalin génère une gélatine de type B. Certaines matières premières sont plus adaptées à un seul des procédés, d'autres supportent les deux :

- le procédé acide est principalement utilisé pour le prétraitement des peaux de porc et dans une moindre mesure de l'osséine ; il est réalisé en plongeant la matière première dans une solution acide (HCl, H_2SO_4, etc.) pendant plusieurs heures à température ambiante. Elle subit ensuite des lavages à l'eau et son pH est ajusté autour de 4 ; l'extraction de la gélatine se fait à partir de ce substrat à l'eau chaude (cuisson) ;
- le procédé alcalin consiste en un prétraitement de la matière première (osséine ou rognure) par un alcalin, généralement la chaux, pendant plusieurs semaines à température ambiante afin d'assurer la solubilisation de constituants autres que le collagène (kératine, globulines, pigments, mucopolysaccharides, etc.). À la fin du chaulage, l'excédent de chaux est éliminé par lavage et le pH est alors ajusté au voisinage de la neutralité avant de réaliser l'opération de cuisson pour solubiliser la gélatine.

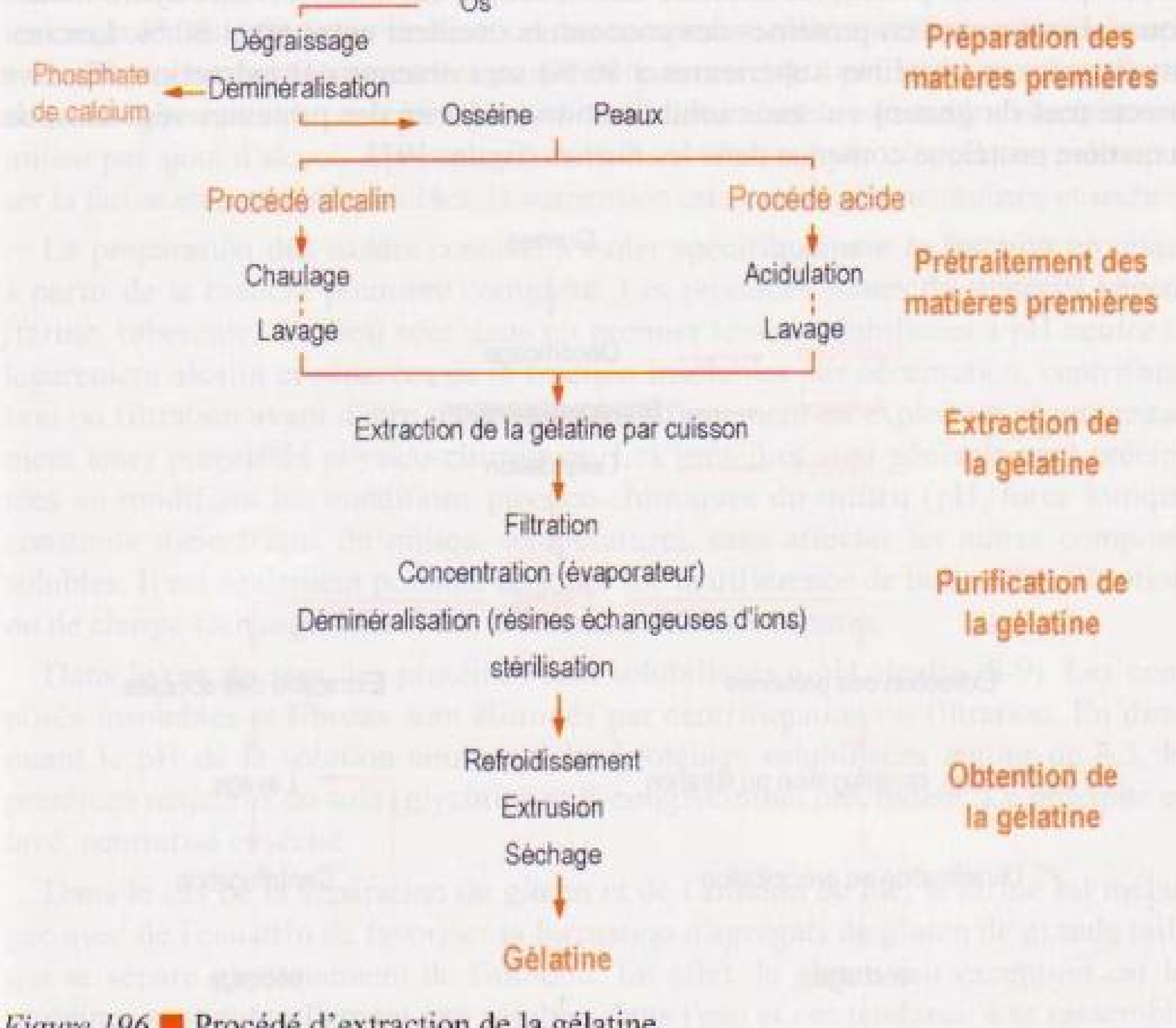


Figure 196 ■ Procédé d'extraction de la gélatine.

À partir de l'opération de cuisson, la gélatine issue d'un prétraitement alcalin ou acide des matières premières subit les mêmes opérations technologiques. Lors de la cuisson, la gélatine est solubilisée tandis que les autres protéines ou mucoïdes s'insolubilisent, est séparée des colloïdes insolubles par filtration puis débarrassée de ses matières minérales par passage au travers de résines échangeuses d'ions avant d'être stérilisée à 140 °C. La solution stérilisée est alors refroidie brutalement afin d'assurer la gélification de la gélatine qui est extrudée au travers d'une filière et déposée sur tapis métallique pour être séchée en continu par soufflage d'air chaud sans provoquer la fusion du gel.

1.4. Protéines végétales

Commercialisées sous forme de farines, concentrés ou isolats, les protéines végétales sont issues de matières premières très diverses. Il peut s'agir de graines ou de produits dérivés des graines de céréales, de légumineuses, d'oléagineux, ou encore d'autres organes végétaux (tubercule, feuille, tige). Les farines sont obtenues après décorticage, broyage et délipidation des matières premières. Elles sont appauvries en cellulose, amidon et huile, et ont une teneur protéique généralement comprise entre 50 et 60 %. L'enrichissement des farines en protéines se fait par extraction

de composés non protéiques solubles dans l'eau ou certains solvants hydro-alcooliques. Les teneurs en protéines des concentrés oscillent entre 60 et 80 %. Les isolats (teneurs en protéines supérieures à 80 %) sont obtenus par extraction sélective directe (cas du gluten) ou après solubilisation (majorité des protéines végétales) de la matière protéique contenue dans les farines (figure 197).

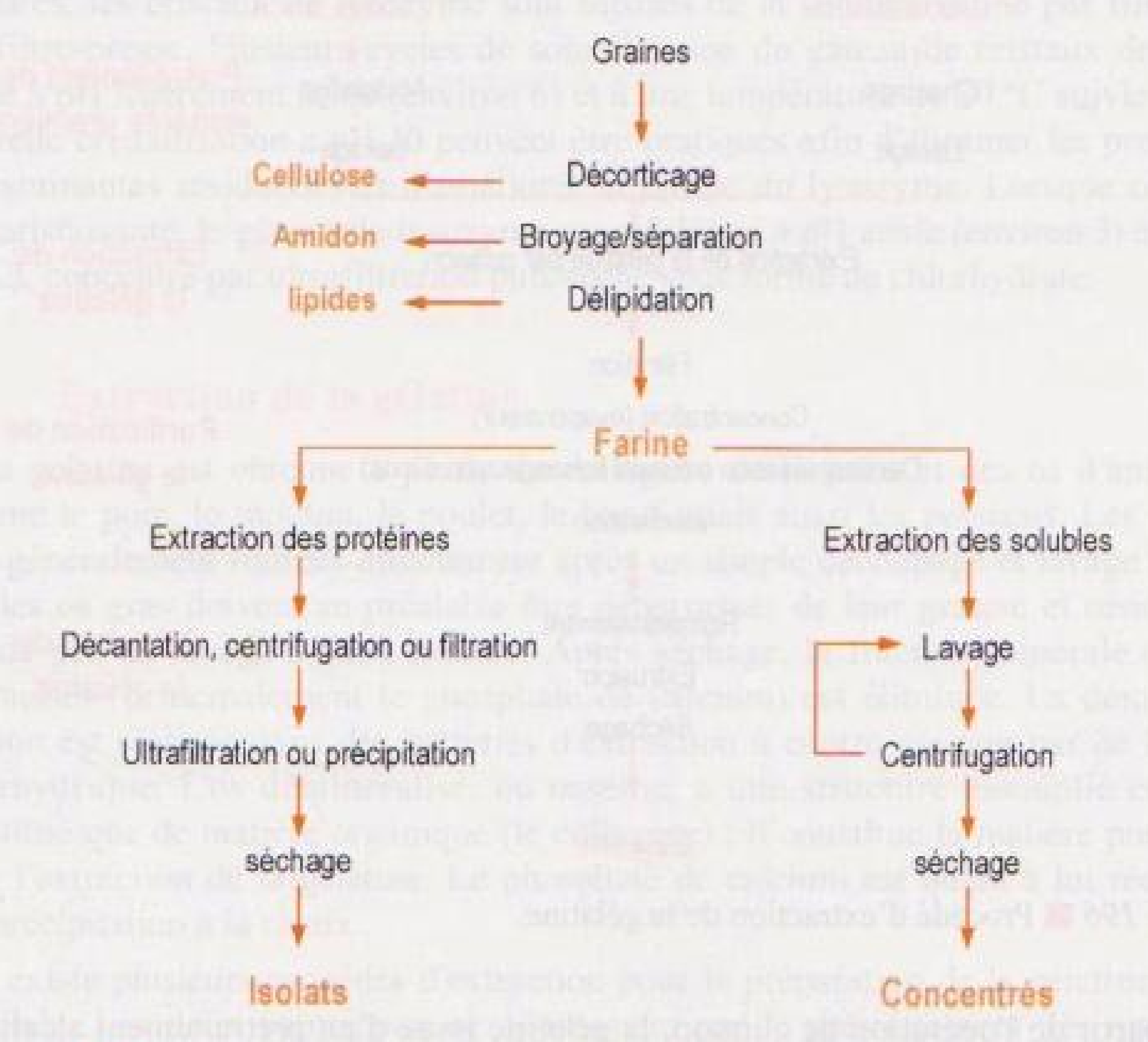


Figure 197 ■ Schéma général de préparation des farines, concentrés et isolats (d'après Berot et Davin, 1985).

L'élaboration des farines comprend l'élimination des parties externes des graines, généralement pauvres en protéines et riches en cellulose. Les céréales sont par exemple broyées pour séparer l'amande des enveloppes suivant un procédé emprunté à la meunerie et les légumineuses telles que le pois sont décortiquées par passage sur cylindres cannelés. L'amande est ensuite broyée et sa mouture est fractionnée dans un cyclone en une fraction grossière enrichie en amidon et une fraction plus fine enrichie en protéine. Enfin, l'extraction de l'huile par solvant est précédée d'une extraction par pression dans le cas des graines oléagineuses (cf. § 3.1.1). Les tourteaux désolvantés sont alors transformés en farines.

La préparation des farines enrichies en protéines (concentrés) consiste à épurer les farines des composés solubles dans l'eau ou certains solvants hydro-alcooliques tout en maintenant les protéines dans la fraction insoluble. Les composés extraits sont les sucres simples, les acides aminés, les minéraux en particulier liés aux phytates, mais aussi des facteurs antinutritionnels et des composés colorés ou responsables de goût ou flaveur indésirables. Les composés pariétaux de nature hémicellulosique ou pectique

restent associés à la fraction protéique dans les concentrés. Afin de minimiser les pertes en protéines dans l'eau, l'extraction des composés solubles s'effectue généralement à un pH proche du pH_i moyen des protéines (par exemple à pH acide pour la préparation des concentrés de protéines de soja) ou en diminuant la constante diélectrique du milieu par ajout d'alcool. Après plusieurs bains acides ou hydroalcooliques pour épuiser la farine en composés solubles, la suspension est centrifugée, neutralisée et séchée.

La préparation des isolats consiste à isoler spécifiquement la fraction protéique à partir de la matière première complexe. Les protéines issues du matériel végétal (farine, tubercule, feuilles) sont dans un premier temps solubilisées à pH neutre ou légèrement alcalin et séparées de la fraction insolubles par décantation, centrifugation ou filtration avant d'être récupérées spécifiquement en exploitant avantageusement leurs propriétés physico-chimiques. Les protéines sont généralement précipitées en modifiant les conditions physico-chimiques du milieu (pH, force ionique, constante diélectrique du milieu, température), sans affecter les autres composés solubles. Il est également possible de jouer sur la différence de taille (ultrafiltration) ou de charge (échange d'ions) des éléments solubles à séparer.

Dans le cas du soja, les protéines sont solubilisées à pH alcalin (8-9). Les composés insolubles et fibreux sont éliminés par centrifugation ou filtration. En diminuant le pH de la solution contenant les protéines solubilisées autour de 4,5, les protéines majeures du soja (glycinine et β-conglycinine) précipitent. Le précipité est lavé, neutralisé et séché.

Dans le cas de la séparation du gluten et de l'amidon de blé, la farine est mélangée avec de l'eau afin de favoriser la formation d'agrégats de gluten de grande taille qui se sépare physiquement de l'amidon. En effet, le gluten fait exception car les protéines sont naturellement peu solubles dans l'eau et ont tendance à se rassembler indépendamment des autres composés. L'amidon est séparé du gluten à l'aide d'un décanteur ou d'un hydrocyclone. À ce stade, le gluten qui forme une masse cohésive est lavé puis séché.

2. *Glucides*

2.1. Saccharose

Le saccharose, constitué d'une molécule de glucose et d'une molécule de fructose (figure 198), est le plus répandu des glucides ; c'est pourquoi il est devenu synonyme de sucre dans le langage courant. Il est produit par photosynthèse par un certain nombre de plantes saccharifères, parmi lesquelles la canne à sucre et la betterave sucrière dont on l'extrait industriellement. La betterave accumule le saccharose au niveau de sa racine. Elle peut contenir de 15 à 20 % de sucre selon les variétés. La canne à sucre accumule le sucre dans sa tige. Sa teneur en sucre varie de 11 à 18 % selon l'espèce, le climat, le terrain et sa maturité. Dans les deux cas, la transformation du végétal doit intervenir immédiatement après récolte, car la teneur en sucre diminue rapidement en raison de son utilisation par le métabolisme de la plante.

Le saccharose fait partie des constituants qui peuvent être obtenus industriellement à haut degré de pureté et à faible coût ; sa séparation des autres constituants

de la betterave ou de la canne fait intervenir une succession d'opérations unitaires. Cette industrie génère de nombreux coproduits qui sont valorisés sous forme d'alcool, d'engrais, en alimentation animale, ou encore comme source d'énergie. Cette dernière utilisation permet à l'industrie sucrière de minimiser sa consommation énergétique.

Les grandes étapes de l'obtention du sucre sont l'extraction et le raffinage. Ce dernier est commun au sucre de canne et au sucre de betterave. En revanche, les premières étapes d'extraction diffèrent selon le végétal d'origine.

Figure 198 ■ Formule chimique du saccharose.

2.1.1. Obtention des jus bruts

2.1.1.1. Par diffusion

Une racine de betterave comprend 25 % de matière sèche répartie en 17 % de paroi cellulaire insoluble, 73 % de sucre et 10 % de matières solubles. Le sucre contenu dans les cellules de la racine de betterave est extrait par diffusion et solubilisation dans l'eau chaude (figure 199).

Le phénomène de diffusion est décrit par la loi de Fick (cf. chapitre 9 du premier volume), qui exprime la quantité de matière diffusante par unité de temps en fonction du coefficient de diffusion D_m, de la surface d'échange et du gradient de concentration en soluté. Ces deux derniers facteurs constituent les leviers principaux sur lesquels il est possible d'intervenir pour optimiser l'extraction du sucre. Ainsi, la première étape consiste à découper les betteraves en cossettes, fines lanières de 5 à 6 cm de long en forme de faîtière, afin d'accroître la vitesse d'extraction en augmentant la surface de contact entre la matière première et le solvant. Par ailleurs, la circulation des cossettes et de l'eau dans le diffuseur s'effectue à contre courant afin d'améliorer le rendement d'extraction en maintenant le gradient de concentration entre le jus et les cossettes. Le jus obtenu en tête du diffuseur est une solution de couleur brun-grisâtre, opalescente à environ 15 % de matière sèche. Elle est légèrement acide (pH 6,0) et contient de 13 à 14 % de sucre pour 1 à 2 % d'impuretés organiques (protéines, pectines, autres sucres, acides organiques) et minérales (sels de sodium, de potassium, de calcium, de magnésium et autres). En queue du diffuseur, on récupère les cossettes épuisées en sucre sous forme de pulpes. Elles seront valorisées en alimentation animale.

2.1.1.2. Par broyage/pressage

Le procédé de diffusion est difficilement applicable à la canne à sucre compte tenu de sa richesse en fibre. Le sucre de canne est extrait par broyage et pressage

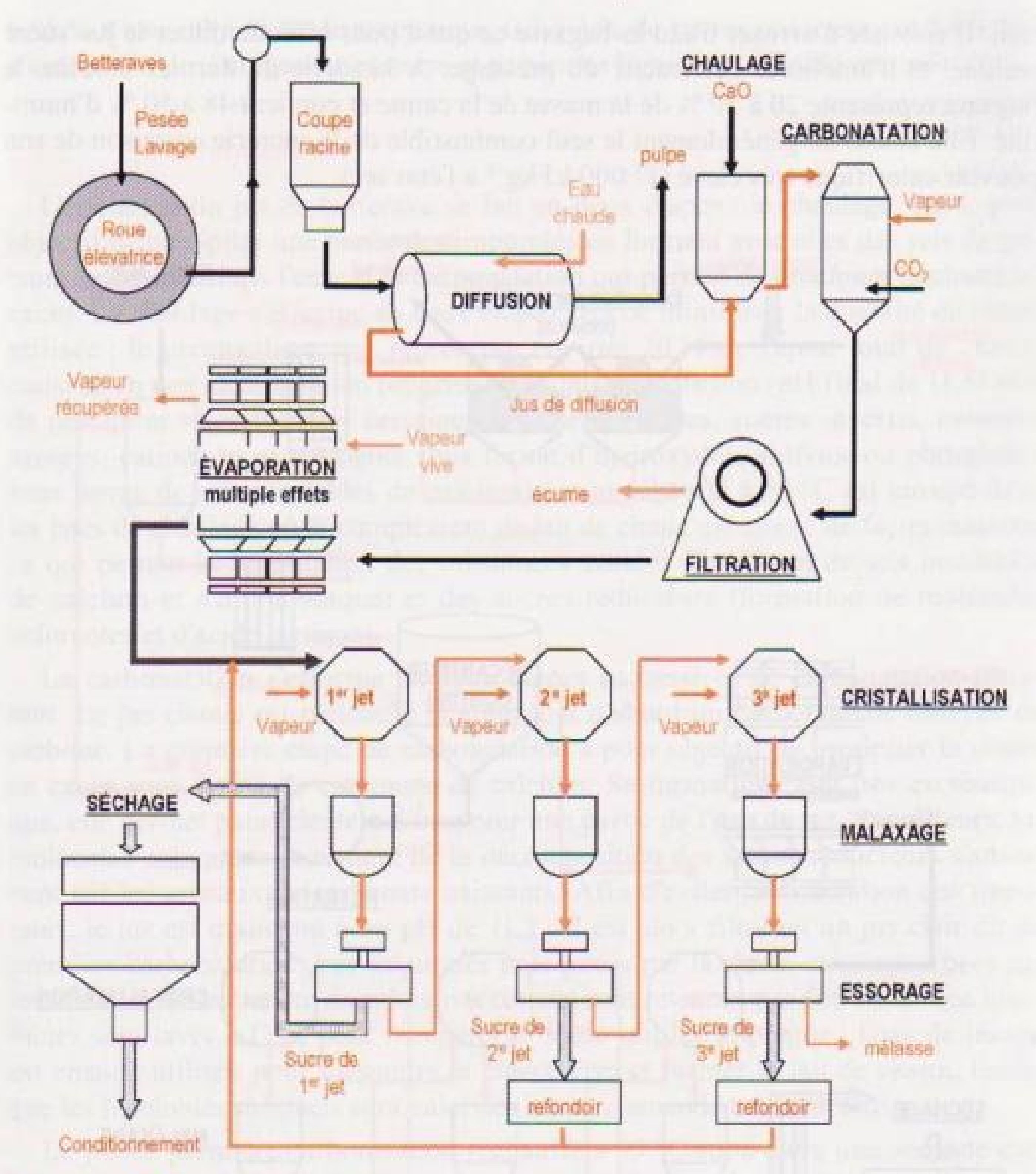


Figure 199 ■ Schéma d'extraction du sucre de betterave.

des cannes (figure 200). Les cannes lavées passent dans des « coupe-cannes » qui les débitent en morceaux de 10 cm de long et 4 mm de diamètre ; ces morceaux sont broyés et défibrés à l'aide d'un moulin constitué de deux cylindres à rainures, puis hachés par un *schredder* qui achève la désintégration de la canne afin de faciliter l'extraction du jus. Les morceaux de canne passent ensuite dans une batterie de moulins (4 à 6) montés en série, chacun étant constitué de trois cylindres horizontaux montés en triangle tournant lentement (4 à 6 tours par minute). La canne est d'abord pressée entre le cylindre inférieur d'entrée et le cylindre supérieur, puis entre ce dernier et le cylindre inférieur de sortie ; elle subit donc deux pressages par moulin. À la sortie du premier moulin, la canne écrasée appelée bagasse est reprise et envoyée au second moulin et ainsi de suite jusqu'au dernier. Après le passage dans le premier moulin, on facilite l'extraction du jus par un procédé dit d'imbibi-

tion. Il consiste à arroser d'eau la bagasse ce qui a pour effet de diluer le jus sucré residuel et d'améliorer l'efficacité du pressage. À la sortie du dernier moulin, la bagasse représente 20 à 30 % de la masse de la canne et contient 48 à 50 % d'humidité. Elle constitue généralement le seul combustible de la sucrerie en raison de son pouvoir calorifique très élevé (17 000 kJ·kg^{-1} à l'état sec).

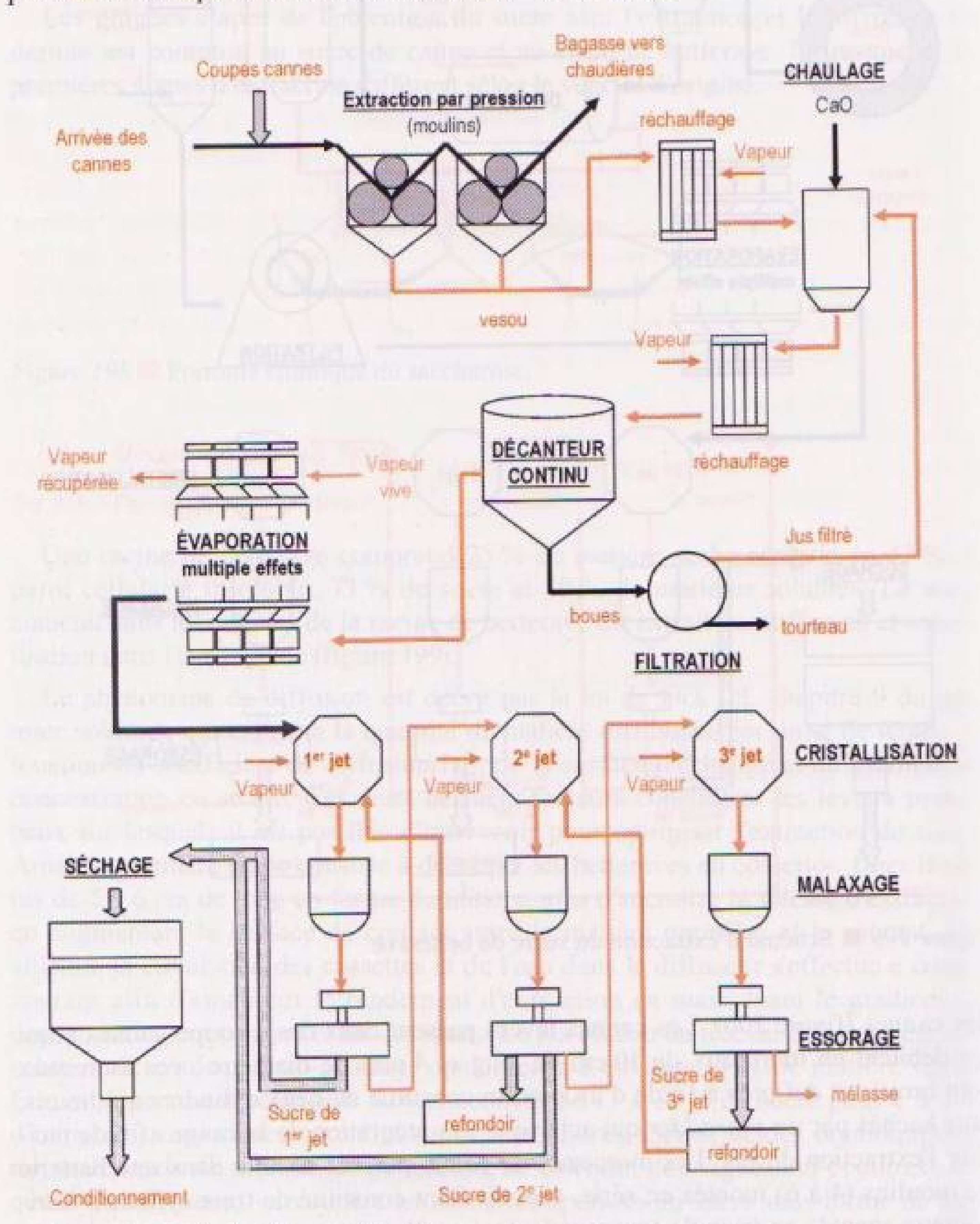


Figure 200 ■ Schéma d'extraction du sucre de canne.

Le jus recueilli au-dessous du moulin est appelé *vésou.* Il est trouble, de couleur allant du jaune verdâtre au brun foncé. Sa composition et sa qualité varient en fonction de la variété et de la qualité de la canne mais en moyenne il contient de 80

à 85 % d'eau, 10 à 18 % de saccharose, 0,3 à 3 % de sucres réducteurs et 0,7 à 3 % d'autres composés organiques (terre et particules ligneuses) et inorganiques.

2.1.2. Épuration des jus

L'épuration du jus de betterave se fait en deux étapes : le chaulage, qui a pour objectif de précipiter une partie des impuretés en formant avec elles des sels de calcium insolubles dans l'eau, et la carbonatation qui permet de précipiter la chaux en excès. Le chaulage s'effectue en deux étapes afin de minimiser la quantité de chaux utilisée ; le préchaulage, qui représente environ 20 % de l'ajout total de chaux, consiste en une alcalinisation progressive du jus de diffusion (pH final de 11,5) afin de précipiter sélectivement certaines impuretés (acides, sucres invertis, matières azotées, cations bi et trivalents sous forme d'hydroxydes, sulfates ou phosphates sous forme de sels insolubles de calcium) ; le jus chauffé à 85 °C est envoyé dans les bacs de chaulage où le complément de lait de chaux est ajouté de façon massive, ce qui permet la dégradation des substances azotées (formation de sels insolubles de calcium et d'ammoniaque) et des sucres réducteurs (formation de molécules colorantes et d'acide lactique).

La carbonatation s'effectue en deux étapes successives de carbonatation-filtration. Le jus chaulé est réchauffé et subit tout d'abord un barbotage de dioxyde de carbone. La première étape de carbonatation a pour objectif de précipiter la chaux en excès sous forme de carbonate de calcium. Sa formation étant très exothermique, elle permet parallèlement d'évaporer une partie de l'eau du jus. Par ailleurs, les molécules colorantes provenant de la décomposition des sucres réducteurs s'adsorbent sur les cristaux de carbonate naissants. Afin d'éviter la dissolution des impuretés, le jus est maintenu à un pH de 11,2 ; il est alors filtré en un jus clair dit de première carbonatation. Les impuretés précipitées par la chaux et/ou adsorbées sur les cristaux de carbonate de calcium (écumes) sont retenues par filtration. Les insolubles sont lavés à l'eau pour récupérer le sucre qui les imprègne ; l'eau de lavage est ensuite utilisée pour dissoudre la chaux vive et former le lait de chaux, tandis que les insolubles résiduels sont valorisés comme amendement calcaire.

Le jus de première carbonatation réchauffé à 95 °C subit alors une seconde carbonatation afin de précipiter la chaux encore présente ; le pH final est d'environ 9,2. Avant concentration, le jus ainsi épuré est décalcifié sur résines échangeuses de cations afin d'éviter l'entartrage des tubes de l'évaporateur, et décoloré en présence de sulfites (SO_2). À ce stade, environ 30 % des impuretés ont été éliminées et la pureté du jus est de l'ordre de 93 % sur base sèche. Le jus épuré est une solution sucrée limpide de couleur jaune paille contenant environ 86 % d'eau, 13 % de sucre et 1 % d'impuretés dissoutes. Ces impuretés diffèrent de celles du jus de betterave : il s'agit surtout de sucres autres que le saccharose, de matières albuminoïdes, d'acides organiques, de colorants (chlorophylle, tanins), de corps gras (cire), de sels inorganiques (fer), de gommes, de pectines présentes à l'état colloïdal et particulièrement difficiles à éliminer. L'épuration du jus de canne à sucre ne nécessite pas d'étape de carbonatation, toute la chaux étant utilisée pour la transformation des acides en sels insolubles et la coagulation des matières albuminoïdes.

Après chaulage, le jus est porté à ébullition afin de favoriser la floculation des impuretés résiduelles (boues) qui se déposent au fond d'un décanteur (figure 200). Le jus clarifié est dirigé vers l'étape de concentration par évaporation. Les boues décantées sont mélangées avec de la fine bagasse (adjuvant de filtration) et sont filtrées sur des filtres rotatifs sous vide. Le filtrat ainsi obtenu est de nouveau dirigé vers l'étape de chaulage et le résidu désucré (appelé tourteau ou écume) est valorisé comme engrais.

2.1.3. Concentration des jus par évaporation

Le jus de betterave ou de canne est concentré environ cinq fois par évaporation, ce qui permet d'atteindre une concentration en saccharose proche de la saturation, de l'ordre de 60 à 70 % (p/p). On utilise des évaporateurs multiples effets à flots grimpants ; la surface d'échange et le gradient de température entre le fluide caloporteur et le produit représentent les leviers d'optimisation de la concentration. Le niveau de consommation d'énergie est de l'ordre de 3,1 kWh pour 100 kg de betteraves.

2.1.4. Cristallisation du saccharose

La cristallisation est la phase ultime de purification du saccharose. Elle permet d'isoler les dernières impuretés qui sont concentrées dans la phase liquide, appelée mélasse, alors que le saccharose est extrait sous forme de cristaux.

La cristallisation implique en premier lieu une phase dite de nucléation, c'est-à-dire de formation des noyaux ou germes cristallins ; dans un deuxième temps, les germes cristallins se développent lors de la phase de croissance. Dans le cas du saccharose, il faut au moins six molécules pour former l'unité de base pouvant entrer dans l'architecture cristalline. D'un point de vue thermodynamique, la stabilité d'un noyau et son existence à l'état tridimensionnel nécessitent le franchissement d'une barrière énergétique correspondant à une taille critique d'environ 100 molécules de saccharose. La croissance des cristaux se fait par fixation de molécules de saccharose à la surface du cristal. C'est un processus hétérogène dans lequel interviennent la diffusion des molécules de saccharose de la solution vers la surface du cristal et l'incorporation des molécules au réseau cristallin.

En fin de concentration, le sirop de sucre contient 60 à 65 % de saccharose, concentration insuffisante pour qu'il y ait cristallisation. Le sirop doit être concentré jusqu'à sursaturation, généralement par évaporation isotherme, pour permettre l'apparition de germes cristallins et/ou la croissance des cristaux déjà existants. La zone de sursaturation comprend trois domaines (figure 201) :

- une zone métastable dans laquelle la cristallisation peut avoir lieu, mais uniquement lors de l'ensemencement en cristaux initiant le processus ;
- une zone intermédiaire dans laquelle la nucléation est possible mais hétérogène ;
- une zone labile dans laquelle la nucléation a lieu spontanément.

Afin de faciliter la séparation des cristaux et le transfert du produit, au regard de sa viscosité, la cristallisation est réalisée en trois étapes appelées jets (figure 202) :

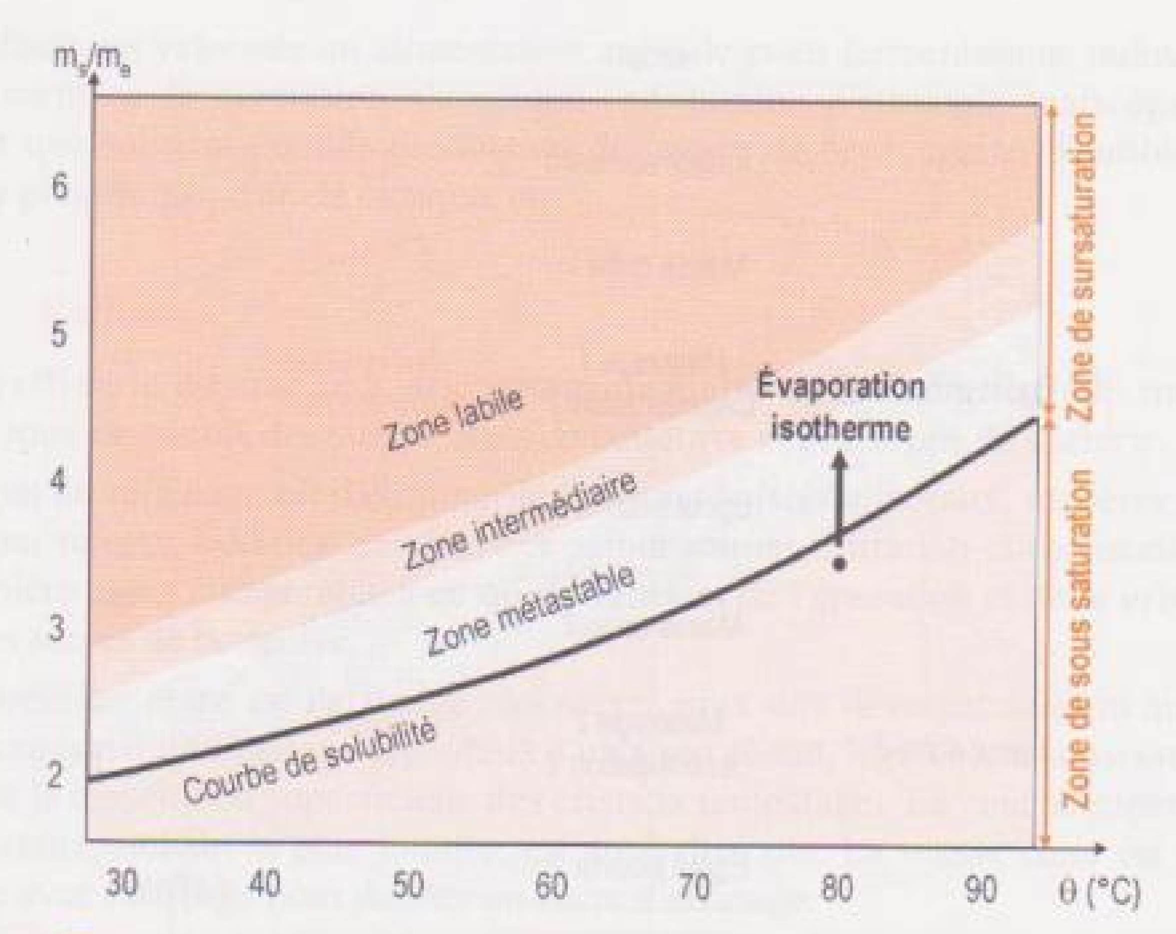


Figure 201 ■ Courbe de solubilité de saccharose en fonction de la température.

un jet comprend une phase de cuisson, une phase de malaxage et une phase de centrifugation. Au-delà de trois jets, le sucre cesse de cristalliser du fait de l'augmentation de la teneur en impuretés.

Le sirop d'alimentation du premier jet, appelé liqueur standard, est la résultante du mélange de différents produits. Il est introduit dans de grandes chaudières appelées « cuites » fonctionnant sous vide partiel à 80 °C dans lesquelles se déroule une évaporation isotherme afin d'amener la liqueur dans la zone métastable (cuisson). On introduit alors dans la cuite de fins cristaux de saccharose pour initier la cristallisation : c'est le grainage. Il est ainsi possible de contrôler la taille des cristaux de sucre formés : en effet, le nombre de cristaux récupérés correspond au nombre de cristaux introduits et le saccharose contenu dans la liqueur standard est uniquement impliqué dans la croissance de ces cristaux. Le mélange sirop/cristaux prend alors le nom de masse cuite. À mesure que les cristaux grossissent, la concentration du sirop diminue. Pour maintenir la sursaturation, on alimente constamment la cuite en sirop tout en évaporant sous vide. Lorsque la vitesse de cristallisation diminue et que la cuite est pleine, l'alimentation en sirop est stoppée mais l'évaporation est poursuivie. Cette dernière phase de la cuisson permet d'évaporer l'eau excédentaire et d'améliorer le rendement de cristallisation. En général, on se limite à un rendement de 55 % en premier jet.

La masse cuite est alors refroidie de 75-85 °C à 45-50 °C sous agitation régulière (malaxage) permettant ainsi aux cristaux d'achever leur croissance. Les cristaux sont essorés par centrifugation ; la phase liquide évacuée est appelée égout pauvre. Les cristaux sont lavés et séchés par le clairçage, un ajout d'eau chaude puis de vapeur. Le sirop recueilli, d'une grande pureté, constitue l'égout riche. À la sortie de la centrifugeuse les cristaux contiennent moins de 1 % d'eau.

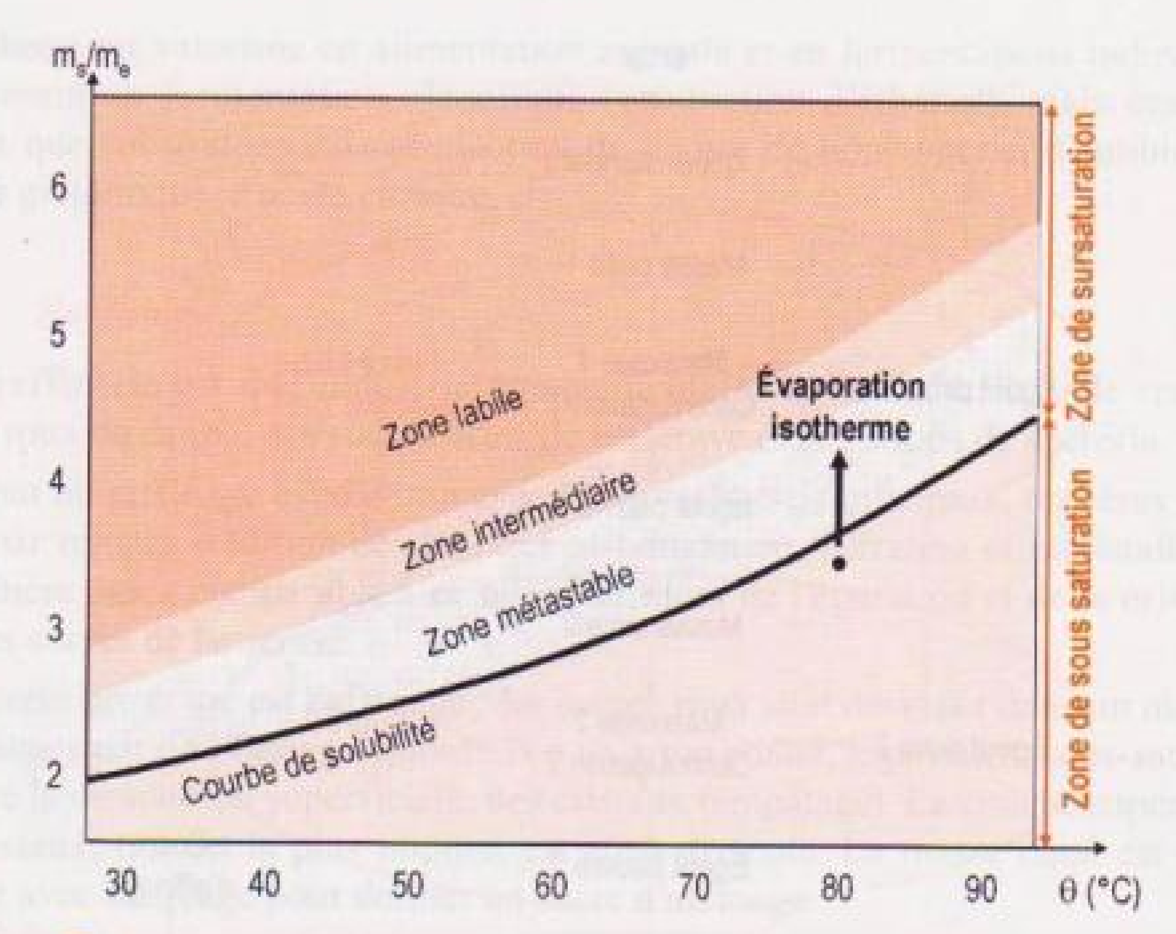


Figure 201 ■ Courbe de solubilité de saccharose en fonction de la température.

un jet comprend une phase de cuisson, une phase de malaxage et une phase de centrifugation. Au-delà de trois jets, le sucre cesse de cristalliser du fait de l'augmentation de la teneur en impuretés.

Le sirop d'alimentation du premier jet, appelé liqueur standard, est la résultante du mélange de différents produits. Il est introduit dans de grandes chaudières appelées « cuites » fonctionnant sous vide partiel à 80 °C dans lesquelles se déroule une évaporation isotherme afin d'amener la liqueur dans la zone métastable (cuisson). On introduit alors dans la cuite de fins cristaux de saccharose pour initier la cristallisation : c'est le grainage. Il est ainsi possible de contrôler la taille des cristaux de sucre formés : en effet, le nombre de cristaux récupérés correspond au nombre de cristaux introduits et le saccharose contenu dans la liqueur standard est uniquement impliqué dans la croissance de ces cristaux. Le mélange sirop/cristaux prend alors le nom de masse cuite. À mesure que les cristaux grossissent, la concentration du sirop diminue. Pour maintenir la sursaturation, on alimente constamment la cuite en sirop tout en évaporant sous vide. Lorsque la vitesse de cristallisation diminue et que la cuite est pleine, l'alimentation en sirop est stoppée mais l'évaporation est poursuivie. Cette dernière phase de la cuisson permet d'évaporer l'eau excédentaire et d'améliorer le rendement de cristallisation. En général, on se limite à un rendement de 55 % en premier jet.

La masse cuite est alors refroidie de 75-85 °C à 45-50 °C sous agitation régulière (malaxage) permettant ainsi aux cristaux d'achever leur croissance. Les cristaux sont essorés par centrifugation ; la phase liquide évacuée est appelée égout pauvre. Les cristaux sont lavés et séchés par le clairçage, un ajout d'eau chaude puis de vapeur. Le sirop recueilli, d'une grande pureté, constitue l'égout riche. À la sortie de la centrifugeuse les cristaux contiennent moins de 1 % d'eau.

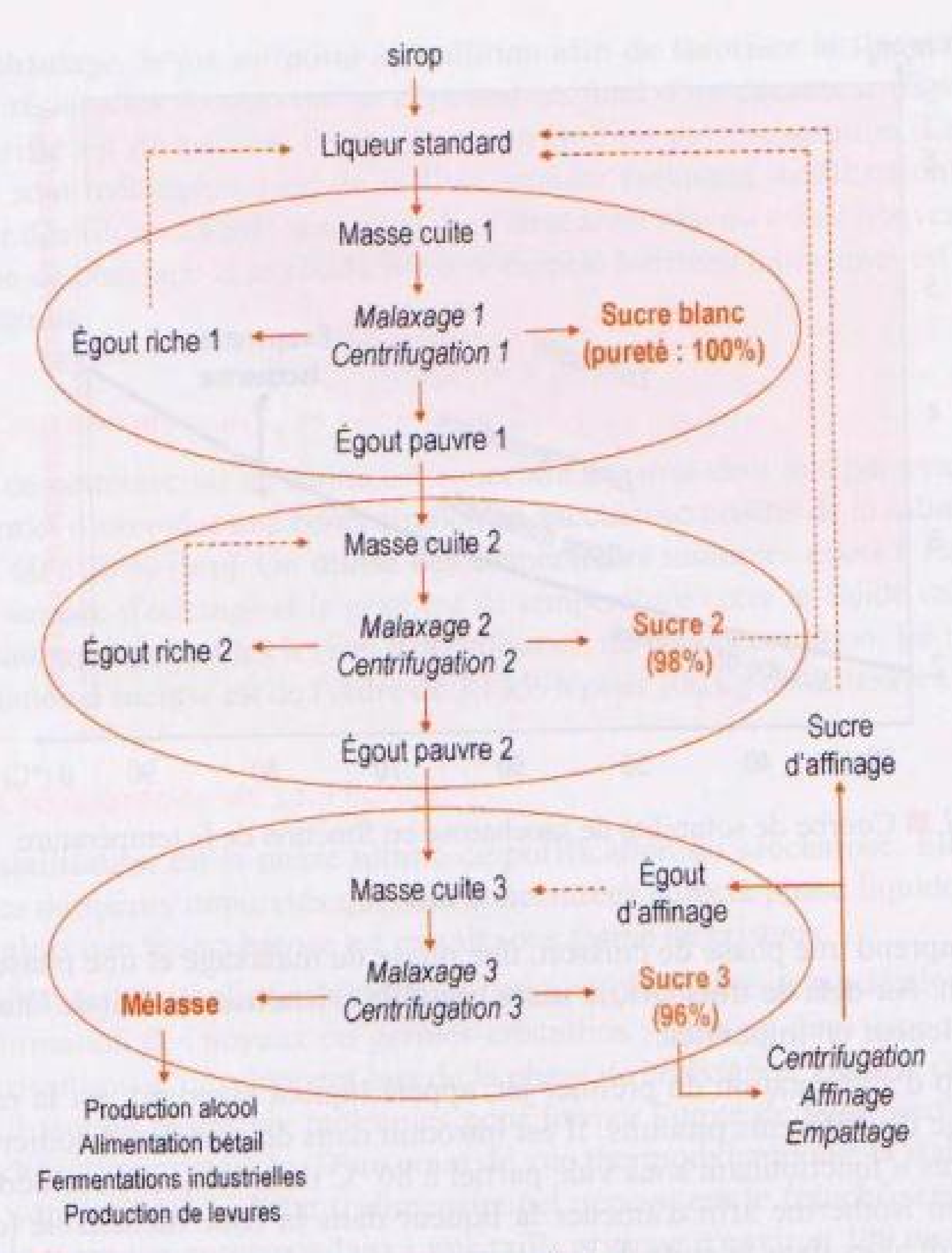


Figure 202 ■ Cristallisation du saccharose en trois jets.

Les égouts pauvres de premier et deuxième jets servent de sirop d'alimentation au jet suivant. Les égouts riches sont quant à eux réintroduits dans la masse cuite du jet dont ils sont issus.

Le sucre de betterave récupéré à l'issue du premier jet est très blanc et très pur. Il est directement destiné à l'alimentation humaine. En revanche, le sucre de canne issu du premier jet est roux en raison du plus grand nombre de polyphénols et de tanins. Il pourra être commercialisé en l'état ou sera raffiné. À l'issue du deuxième jet, on obtient un sucre roux, pur à 98 %. Il est réintroduit dans la liqueur standard pour être refondu et à nouveau purifié. Enfin, au terme du troisième jet, le sucre récupéré n'est pur qu'à 96 %. Avant d'être refondu et réintroduit dans la liqueur standard, il va subir un affinage afin de réduire la quantité d'impuretés réintroduites dans la liqueur standard.

La cristallisation du saccharose génère un coproduit quantitativement et qualitativement important en terme de valorisation : la mélasse. Elle est constituée à 50 % de sucre, et contient des sels de potasse et diverses matières organiques et azotées.

La mélasse est valorisée en alimentation animale et en fermentations industrielles, notamment en fermentation alcoolique (production d'éthanol), mais également en tant que substrat pour la production de levure de boulangerie, d'antibiotiques, d'acide glutamique, d'acide citrique, etc.

2.1.5. Raffinage

La raffinerie est une industrie complémentaire de la sucrerie ; elle traite des sucres roux de canne, des sucres bruts de betterave et des sirops de sucrerie.

Le but du raffinage est d'éliminer les impuretés (sels minéraux, matières organiques) par refonte, addition de chaux et carbonatation, filtration et recristallisation, de manière assez comparable à ce qui se fait lors de l'épuration et de la cristallisation des sucres de betterave.

La première étape est l'affinage : les sucres roux sont déversés dans un malaxeur et mélangés par un brassage vigoureux à un sirop chaud, légèrement sous-saturé qui favorise la dissolution superficielle des cristaux (empâtage). La couche superficielle des cristaux, qui est la plus impure, est ainsi dissoute. La masse cuite est ensuite essorée avec clairçage pour donner un sucre d'affinage.

L'étape suivante est la refonte : le sucre d'affinage est dissous dans de l'eau chaude, et le sirop formé est alcalinisé par du lait de chaux. Les impuretés précipitent et sont séparées du sirop par filtration. Le sirop passe alors sur un lit de charbons actifs qui permet sa décoloration. Ce jus donne un sucre de qualité en 4 ou 5 jets de cristallisation.

2.1.6. Séchage

Le sucre cristallisé blanc, issu du premier jet, est évacué encore chaud (45 à 60 °C) et humide (1 %). Les cristaux de sucre sont alors enrobés d'un film de sirop saturé, en équilibre avec l'atmosphère selon l'isotherme de sorption du sucre cristallisé (figure 203). Pour assurer une bonne stabilité du sucre, il faut réduire l'humidité du film qui est proche de 30 % (a_w de l'ordre de 0,8), à des valeurs comprises entre 0,03 et 0,06 %. Afin de limiter l'échauffement du sucre et le risque de caramélisation, le séchage est réalisé à co-courant avec de l'air chaud (50 °C) et sec ; le refroidissement s'effectue à contre-courant avec de l'air froid et sec afin d'obtenir un produit stable.

Si le séchage est trop rapide, il se forme une couche superficielle de sucre amorphe. Ses propriétés sont très différentes de celles du sucre cristallisé. Il est dans un état métastable et a tendance à absorber de l'eau même à de faibles valeurs d'a_w, ce qui le prédispose à la prise en masse, l'agglomération et la perte d'écoulement. Après adsorption d'eau (diminution de T_g) ou augmentation de la température, le sucre amorphe peut cristalliser en libérant de l'eau. La présence de sucre amorphe en surface des cristaux représente donc un facteur d'instabilité, et il est nécessaire de maîtriser les paramètres du séchage (θ, H_R) afin de limiter sa formation.

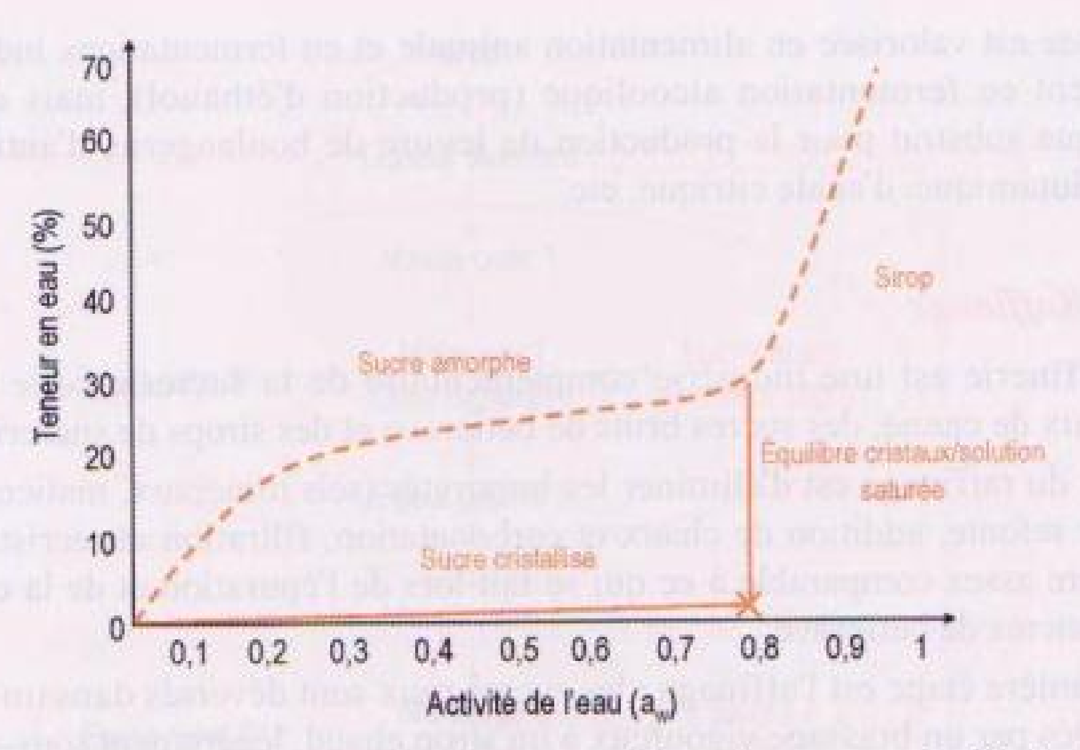


Figure 203 ■ Isotherme de sorption de vapeur d'eau du sucre cristallisé et du sucre amorphe à 25 °C.

2.1.7. *Conditionnement*

Après séchage, le sucre est tamisé, classé et pesé puis dirigé vers les ateliers de conditionnement où il peut être directement ensaché ou conditionné en morceaux ou stocké en silos. Le sucre destiné au stockage en silo est en apparence sec et fluide, mais la cristallisation du sucre amorphe résiduel peut se poursuivre à la surface du cristal au cours des premiers jours de stockage ; elle s'accompagne d'une libération d'eau qu'il faut éliminer par ventilation des silos (maturation).

2.1.8. *Applications du saccharose et de ses dérivés en alimentaire*

L'industrie sucrière a diversifié son offre commerciale afin de fournir au consommateur ou aux industries utilisatrices du sucre sous la forme la plus appropriée à leurs besoins (figure 204).

2.1.8.1. *Saccharose*

À partir du sucre cristallisé blanc, il est possible d'obtenir une large gamme de produits par tamisage, broyage, concassage ou moulage :

- *sucre en poudre* ou *sucre semoule* (taille des cristaux avoisinant 0,4 mm) : Il est utilisé pour la préparation de desserts, entremets et pour sucrer laitages et fruits. Il peut être légèrement doré et aromatisé à l'extrait ou à l'essence de vanille ;
- *sucre glace* (taille des cristaux inférieure à 0,15 mm) : très hygroscopique, il est souvent additionné de 3 % d'amidon de maïs pour éviter la prise en masse. Son utilisation est recommandée dans tous les desserts sans cuisson, la décoration à sec des pâtisseries et la réalisation de glaçages ;
- *sucre en morceaux* : le sucre cristallisé humidifié à chaud est moulé puis séché pour former des blocs de différents calibres. Il est utilisé pour sucrer les bois-

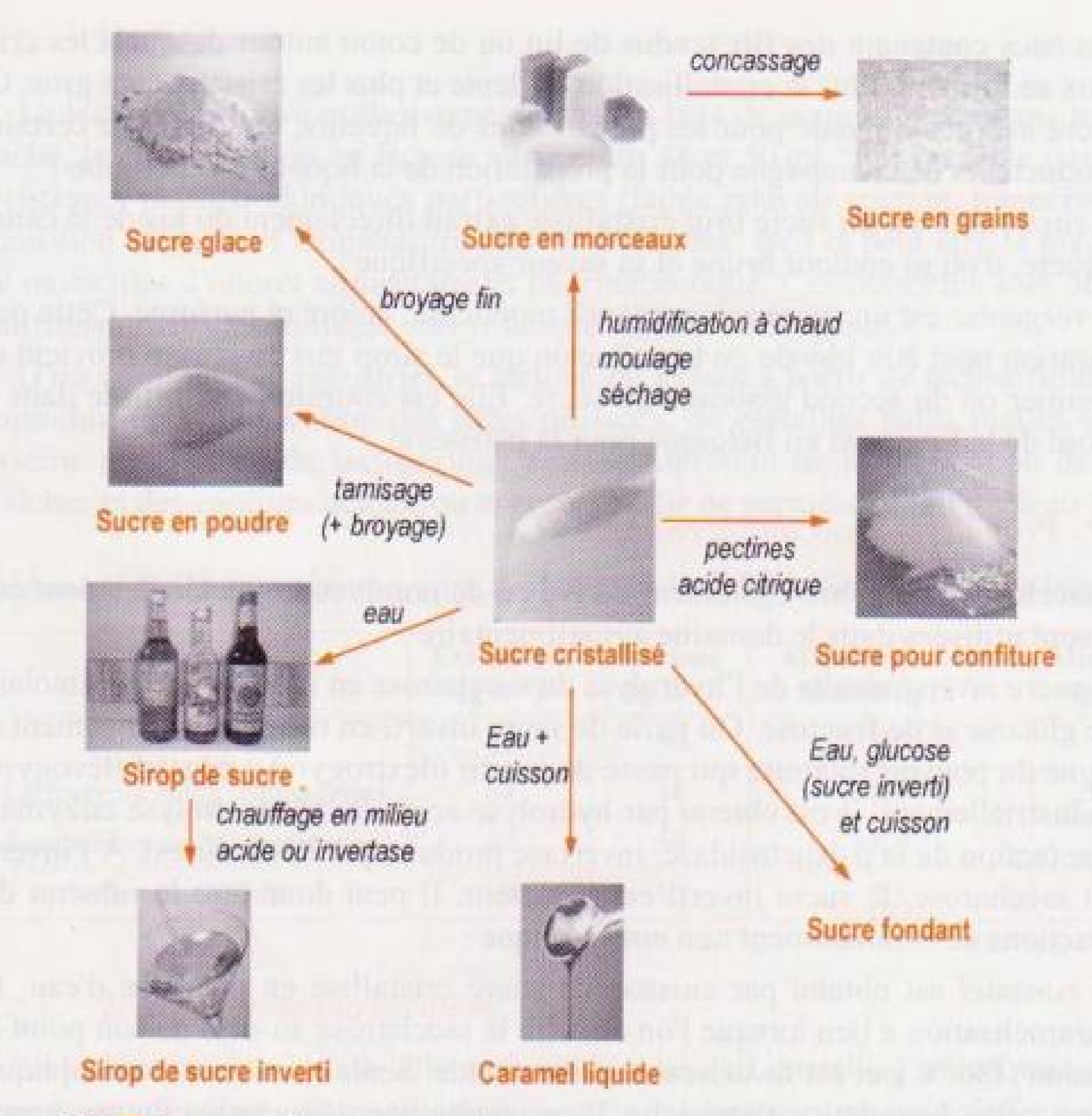


Figure 204 ■ Le sucre dans tous ses états.

sons chaudes ou préparer des sirops de sucre ou du caramel, son format permettant un dosage facile ;

– *sucre en grain* : les grains de forme arrondie sont obtenus par concassage de morceaux de sucre raffiné très pur. Les grains sont ensuite classés selon leur taille par tamisage ;

– *sucre pour confiture* : le sucre blanc est additionné de pectines naturelles de fruits (0,4 à 1 %), d'acide citrique alimentaire (0,6 à 0,9 %) et parfois d'acide tartrique. Les pectines favorisent la prise des confitures, leur action étant améliorée par la présence des acides ;

– *sucre liquide ou sirop de sucre* : cette solution incolore de saccharose a une teneur minimale en matière sèche de 62 % (dont 3 % maximum de sucre inverti) ; elle est en général destinée à l'industrie agroalimentaire à l'exception du sirop de sucre de canne, incolore ou blond, qui est commercialisé pour la préparation de cocktails ou de desserts.

D'autres présentations du sucre sont obtenues par modification des procédés d'extraction ou de raffinage :

– le *sucre candi* est obtenu par cristallisation lente d'un sirop de raffinerie de pureté très élevée, concentré et chaud, que l'on laisse refroidir lentement dans

des bacs contenant des fils tendus de lin ou de coton autour desquels les cristaux se forment. Plus la cristallisation est lente et plus les cristaux sont gros. Ce sucre est recommandé pour les préparations de liqueurs, et utilisé par certains producteurs de champagne pour la préparation de la liqueur d'expédition ;
- la *cassonade* est un sucre brut cristallisé, extrait directement du jus de la canne à sucre, d'où sa couleur brune et sa saveur spécifique ;
- la *vergeoise* est un sucre à consistance moelleuse, coloré et parfumé. Cette préparation peut être blonde ou brune selon que le sirop mis en œuvre provient du premier ou du second essorage du sucre. Elle est couramment utilisée dans le Nord de la France et en Belgique pour la pâtisserie.

2.1.8.2. Produits dérivés du saccharose

Le saccharose peut être également dérivé en de nombreuses molécules dont certaines sont utilisées dans le domaine agroalimentaire :
- le *sucre inverti* résulte de l'hydrolyse du saccharose en un mélange équimolaire de glucose et de fructose. On parle de sucre inverti en raison du changement de signe du pouvoir rotatoire qui passe de positif (dextrogyre) à négatif (lévogyre). Industriellement, il est obtenu par hydrolyse acide ou par hydrolyse enzymatique (action de la β-fructosidase, invertase produite par des levures). À l'inverse du saccharose, le sucre inverti est réducteur. Il peut donc être le substrat des réactions de brunissement non enzymatique ;
- le *caramel* est obtenu par cuisson de sucre cristallisé en présence d'eau. La caramélisation a lieu lorsque l'on chauffe le saccharose au-delà de son point de fusion (186 °C), et est favorisée en milieu acide. Seuls les sucres sont impliqués dans cette dégradation thermique. Il en résulte une dissociation du saccharose en glucose et fructose suivie d'une série de déshydratations et d'isomérisations variant en fonction du traitement thermique et de l'acidité. Ces réactions conduisent à la formation de composés colorés et aromatiques ;
- les *polyols* sont des édulcorants de charge dont la valeur énergétique est inférieure à celle du saccharose. Ils sont obtenus par réduction de celui-ci. En fonction des conditions de la réaction (température, pression, catalyseur), on obtient différents produits hydrogénés tels que le sorbitol, le mannitol ou un mélange équimolaire des deux (l'isomalt). Ces constituants ne sont pas fermentescibles, d'où leur caractéristique acariogène ;
- les *sucro-esters* sont obtenus par trans-estérification du saccharose et d'esters méthylés d'acide gras, le plus souvent d'origine végétale. Ces molécules présentent de très nombreuses applications notamment en raison de leurs propriétés amphiphiles. Elles sont notamment utilisées pour leurs propriétés tensioactives (stabilisation d'émulsion), mais également pour leurs propriétés antiadhésives et lubrifiantes (confiserie), de texturation (panification et biscuiterie), de dispersion et de solubilisation (boissons) ainsi que pour leurs propriétés antibactériennes et antifongiques (Cecchin, 2001).

2.2. Lactose

Le lactose se trouve exclusivement dans les laits de mammifères. Dans le lait de vache, la concentration en lactose varie entre 48 et 50 g·L^{-1}. Il présente des caractéristiques physico-chimiques particulières (faible pouvoir sucrant, température de transition vitreuse et température de fusion élevées, etc.) et peut être le précurseur de molécules d'intérêt alimentaire et pharmaceutique. Ces dernières sont obtenues par transformation chimique, enzymatique ou microbiologique.

D'un point de vue industriel, le lactose est extrait à partir de lactosérums doux, coproduit de la fabrication des pâtes pressées, de certaines pâtes molles et de la caséine présure, ou de lactosérums acides, coproduit de la fabrication des pâtes fraîches et des caséines acides, ou encore à partir de perméat de lait (tableau 41).

Tableau 41 ■ Composition moyenne de différents liquides laitiers, sources de lactose.

	Extrait sec (g·L^{-1})	Lactose (g·L^{-1})	Matières azotées totales (g·L^{-1})	Minéraux (g·L^{-1})
Lactosérum doux	67	50	9,5	7,5
Lactosérum acide (fromagerie)	64	44	8,0	12,0
Lactosérum acide (caséinerie)	67	50	8,0	9,0
Perméat de lait	60	50	2,5	7,5

2.2.1. Extraction et purification

Le lactose produit industriellement est dans un état cristallisé sous forme de cristaux α monohydratés. Sa purification à partir des lactosérums peut s'effectuer selon trois procédés qui diffèrent dans leurs étapes initiales (figure 205) :

• Dans la première voie (figure 205, voie 1), le lactosérum est chauffé à 90 °C en présence de $CaCl_2$ (0,15 %), pour induire la précipitation des protéines sériques. Après séparation des protéines dénaturées par filtration, le filtrat contenant le lactose (4,8 %) est concentré par évaporation jusqu'à atteindre une teneur en lactose de 15 %. Un chauffage supplémentaire permet de précipiter l'excès de calcium qui est ensuite éliminé. La solution de lactose (15 %) est de nouveau concentrée environ quatre fois. La cristallisation est initiée par ajout de cristaux de lactose α finement divisés dans la solution de lactose concentré à une température de 60 °C ; la solution concentrée de lactose est alors refroidie lentement, la température passant de 60 °C à 15 °C en une vingtaine d'heures, ce qui permet la formation de gros cristaux qui seront plus facilement séparés par décantation ou centrifugation. La cristallisation du lactose α entraîne la maturation du lactose β vers la forme α (cf. chapitre 2, § 1.2.1. du premier volume). Le coproduit de cristallisation est une solution de lactose fortement minéralisée.

• Dans la deuxième voie, la dénaturation des protéines est limitée en maintenant la température du lactosérum en dessous de 70 °C durant toutes les étapes (figure 205, voie 2). Le lactosérum est dans un premier temps concentré 12 fois par évaporation à 65 °C, avant d'être ensemencé de cristaux de lactose α finement divisés puis refroidi jusqu'à une température de 15-20 °C en une vingtaine d'heures

(rendement de cristallisation entre 70 et 80 %). Le coproduit formé est un sérum délactosé (équivalent lait concentré 2,5 fois), qui est concentré jusqu'à obtenir un extrait sec d'environ 50 % avant séchage.

• Dans la troisième voie (figure 205, voie 3), le lactosérum est d'abord déprotéiné par ultrafiltration puis concentré par évaporation jusqu'à obtenir une concentration en lactose proche de 60 %. La solution saturée en lactose est ensuite ensemencée de lactose α finement divisé dans un tank de cristallisation. Le refroidissement provoque la cristallisation du lactose α. Le rétentat d'ultrafiltration est utilisé pour la fabrication de concentrés de protéines sériques dont la teneur en lactose varie suivant le facteur de concentration appliqué. Le coproduit de cristallisation riche en lactose et minéraux est destiné à l'alimentation animale.

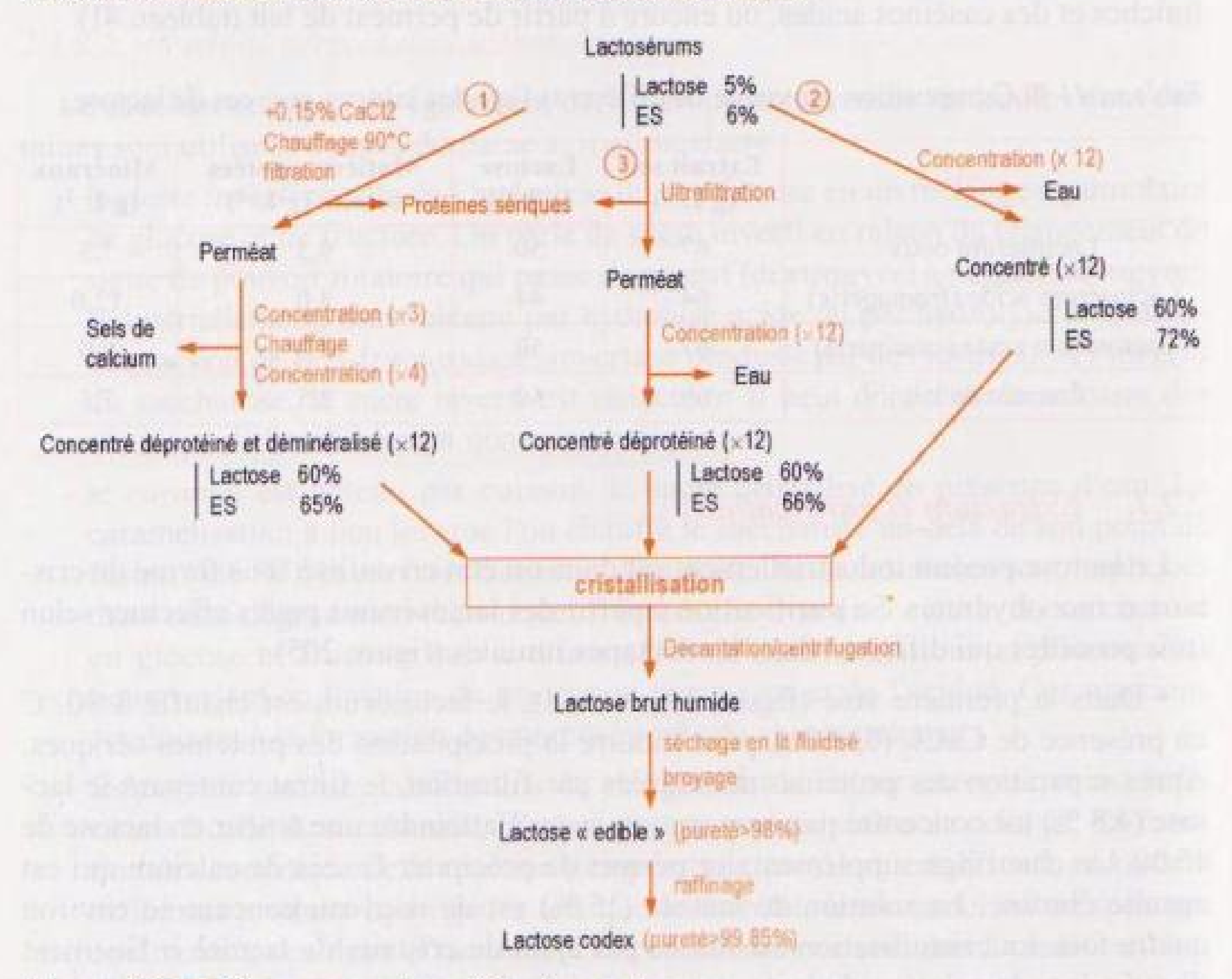


Figure 205 ■ Diagrammes de purification du lactose.

Quel que soit le procédé mis en œuvre, les cristaux de lactose α (rendement de cristallisation de l'ordre de 80 %) sont ensuite séparés de la solution mère par décantation ou centrifugation, lavés, séchés sur lit fluidisé puis broyés. Le lactose obtenu a une pureté de l'ordre de 98 % (lactose « édible »). Sa pureté peut être accrue jusqu'à des valeurs de 99,8 % par une opération de raffinage (lactose codex), qui comprend une dispersion à chaud (température supérieure à 90 °C) des cristaux de lactose à une teneur proche de 60 %. La température permet la dénaturation des protéines et la précipitation des sels de calcium résiduels. Ceux-ci sont éliminés par filtration avant de réaliser un nouveau cycle de cristallisation, centrifugation et séchage du lactose. Lors du raffinage, le rendement de purification du lactose et d'environ 75 %.

2.2.2. *Dérivés du lactose*

L'hydrolyse, l'oxydation, la réduction, l'isomérisation, la condensation sur groupement aminé ou la fermentation sont autant de voies qui permettent de dériver le lactose et ainsi augmenter son champ d'application (figure 206). Par ailleurs, le lactose peut servir comme substrat pour la production en condition aérobie de biomasse (levures) ou d'enzymes microbiennes.

Figure 206 ■ Principaux dérivés du lactose.

L'hydrolyse du lactose en glucose et galactose permet d'améliorer la qualité nutritionnelle des aliments destinés aux personnes intolérantes au lactose, d'accroître sa solubilité et son pouvoir sucrant et de doubler son pouvoir réducteur. L'hydrolyse du lactose s'effectue soit par voie chimique à pH 2 et à une température proche de 100 °C (procédé drastique) soit par voie enzymatique en présence de β-galactosidase. Issues de moisissures (*Aspergillus*) ou des levures (*Kluyveromyces*), les β-galactosidases commerciales présentent des caractéristiques différentes, en particulier de pH d'activité optimale, de stabilité à la température ou bien encore de sensibilité à l'inhibition par les produits de la réaction. Les hydrolyses peuvent s'effectuer en batch avec des enzymes libres qu'il convient d'inactiver par traitement thermique ou d'éliminer par filtration après réaction, en réacteurs enzymatiques équipés d'une membrane d'ultrafiltration permettant la rétention de l'enzyme ou bien encore par de la β-galactosidase immobilisée sur support mise en œuvre en batch ou lit fixe.

Le lactulose est une épimère du lactose dans lequel le résidu glucose est isomérisé en fructose. L'épimérisation ne s'effectue pas spontanément, mais elle est favorisée par des traitements thermiques en conditions basiques. Le lactulose est

plus sucré que lactose et est acariogène. Il n'est pas hydrolysé par la β-galactosidase intestinale ce qui lui permet d'atteindre le gros intestin et d'être dégradé par des bactéries lactiques du genre *bifidobacterium*. Le lactulose agit ainsi sur la flore intestinale en diminuant le pH du bol intestinal, ce qui empêche la croissance de bactéries putréfiantes indésirables (coliformes) ; ses applications pharmaceutiques reposent sur cette propriété.

Le lactitol est produit par réduction de la fonction réductrice du lactose en présence d'un catalyseur (nickel de Raney). C'est un polyol plus sucré que le lactose et dont la solubilité est proche de celle du saccharose. Il n'est pas assimilable en l'état (non calorifique), mais fermenté dans le gros intestin dont il abaisse le pH, et limite ainsi le développement de flore productrice d'ammoniaque. Il peut être estérifié par un ou plusieurs acides gras et donner un émulsifiant alimentaire ou non (produit de toilette, dentifrice).

L'acide lactobionique est produit par oxydation chimique, enzymatique ou biologique de la fonction réductrice du lactose. Il possède des propriétés chélatantes d'éléments minéraux et de métaux lourds. Cet acide a des applications en alimentaire, en pharmacie et dans la conservation des organes avant transplantation. Sa lactone, obtenue par voie enzymatique ou microbienne, peut être utilisée comme un acidifiant de la famille des glucono-δ-lactones (cf. chapitre 1, § 3.4.).

La lactosyl urée est produite par attaque nucléophile du doublet de l'azote de l'urée sur la fonction réductrice du lactose (première étape de la réaction de Maillard). La lactosyl urée est utilisée comme source d'azote en alimentation animale.

Le lactose est rapidement transformé en condition anaérobie en acide lactique et en éthanol respectivement par les bactéries lactiques et les levures. Après fermentation, les micro-organismes sont éliminés du milieu réactionnel par centrifugation. L'acide lactique est utilisé comme acidifiant alimentaire, agent de conservation, agent anticristallisant, agent de sapidité. Après distillation, l'éthanol à 96,5 % (v/v) peut être utilisé dans l'élaboration de spiritueux (whisky, vodka). Le lactose est également utilisé comme substrat dans la production de xanthane par *Xanthomonas campestris*.

2.3. Polysaccharides

Les méthodes mises en œuvre pour la purification des polysaccharides dépendent avant tout de leurs propriétés de solubilisation. Les polysaccharides peu solubles tels que l'amidon ou la cellulose sont purifiés par fractionnements successifs des divers contaminants. Dans le cas de polysaccharides dont la solubilisation est plus aisée (carraghénanes, pectines, alginates, etc.), les méthodes de purification sont essentiellement basées sur des précipitations sélectives par modification de la température, du pH et de la polarité du solvant.

2.3.1. Amidon

L'amidon est constitué d'un mélange de deux polyosides : l'amylose, chaîne linéaire de D-glucose liées en α(1-4) et l'amylopectine (figure 207), chaîne de D-glucose liées en α(1-4) sur laquelle on trouve des chaînes ramifiées liées en α(1-6).

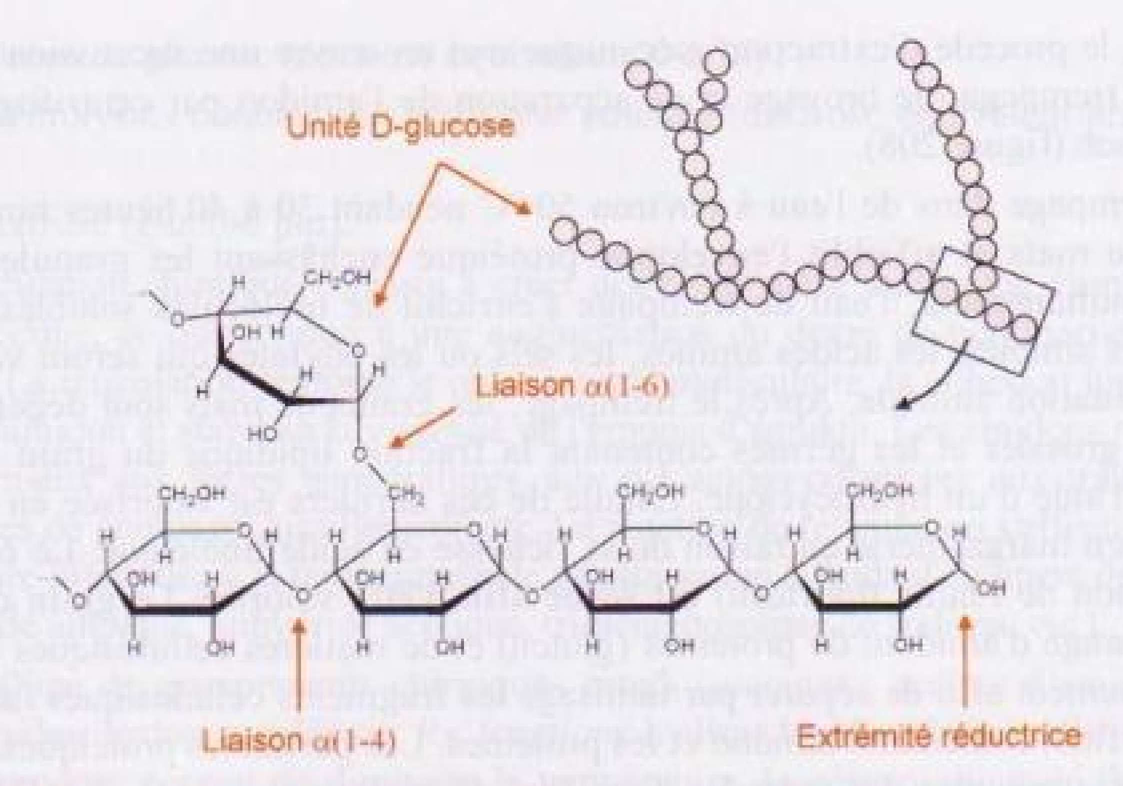


Figure 207 ■ Structure de l'amylopectine.

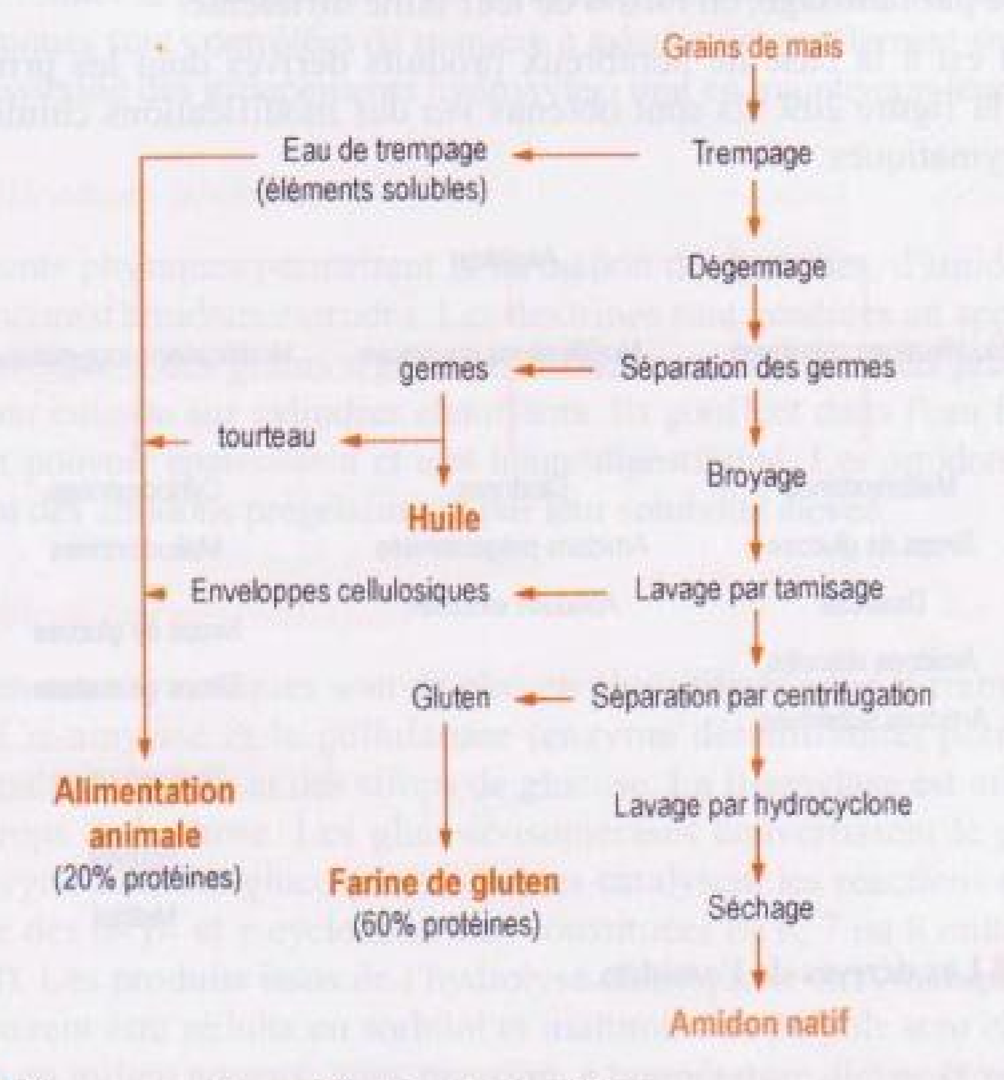


Figure 208 ■ Diagramme de purification de l'amidon.

Les principales sources d'amidon utilisé dans l'industrie agroalimentaire sont les céréales (maïs, blé, riz, sorgho) et les tubercules (pomme de terre, manioc). Les amidons diffèrent les uns des autres par la forme et la taille de leur granule, les proportions respectives des chaînes d'amylose et d'amylopectine qui conditionnent leurs propriétés physiques et par le procédé utilisé pour leur extraction. Dans le cas

du maïs, le procédé d'extraction mécanique met en œuvre une succession d'opérations de trempage, de broyage et de séparation de l'amidon par centrifugation ou décantation (figure 208).

Le trempage dans de l'eau à environ 50 °C pendant 30 à 40 heures ramollit les grains de maïs et affaiblit l'enveloppe protéique enchâssant les granules d'amidon. Simultanément, l'eau de trempage s'enrichit de molécules solubles comme les sucres simples, les acides aminés, les sels ou les phytates qui seront valorisées en alimentation animale. Après le trempage, les grains de maïs sont dégermés par broyage grossier et les germes contenant la fraction lipidique du grain sont éliminés à l'aide d'un hydrocyclone. L'huile de ces derniers est valorisée en huile de table ou en margarinerie en raison de sa richesse en acide linoléique. Le coproduit d'extraction de l'huile (tourteau) est séché afin d'être valorisé. Le grain constitué d'un mélange d'amidon, de protéines (gluten) et de matières cellulosiques est alors broyé finement afin de séparer par tamisage les fragments cellulosiques (son) de la mouture fine, contenant l'amidon et les protéines. Les particules protéiques peuvent ensuite être séparées des granules d'amidon, de masse volumique plus élevée, par décantation ou centrifugation dans des hydrocyclones. Cette séparation peut également se faire par tamisage, en raison de leur taille différente.

L'amidon est à la base de nombreux produits dérivés dont les principaux sont donnés sur la figure 209. Ils sont obtenus *via* des modifications chimiques, physiques ou enzymatiques.

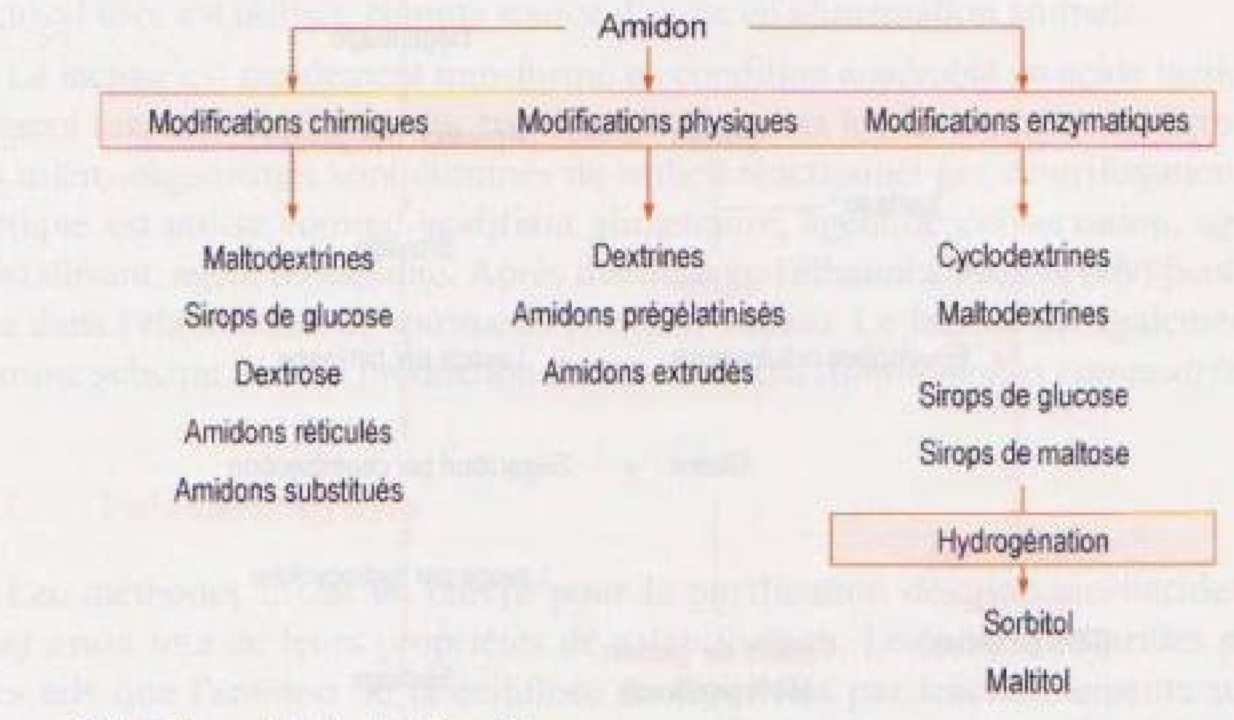


Figure 209 ■ Les dérivés de l'amidon.

2.3.1.1. Modifications chimiques

Trois types de modifications chimiques peuvent être réalisés : l'hydrolyse, la réticulation et le greffage de groupements fonctionnels. L'hydrolyse de l'amylopectine et de l'amylose de l'amidon en solution (30 à 40 %) génère, en présence d'un acide minéral (HCl de 0,1 à 1 %) et suivant les conditions :

– des maltodextrines qui résultent d'une hydrolyse faible (dextrose équivalent 3 à 20) ;

– des sirops de glucose (dextrose équivalent 20 à 70) ;
– des hydrolysats obtenus par hydrolyse poussée (dextrose équivalent proche de 95) ;
– du dextrose (glucose pur).

La réticulation chimique consiste à créer des ponts entre molécules d'amylose et d'amylopectine, ce qui conduit à une augmentation du degré de polymérisation de l'amidon. La réticulation renforce le réseau macromoléculaire, la cohésion interne du granule d'amidon et stabilise la viscosité de l'empois d'amidon. Les amidons réticulés résistent mieux aux fortes températures, aux pH acides ou encore aux traitements mécaniques de pompage, cisaillement, etc. La réaction de réticulation s'effectue à une température inférieure à la température de gélatinisation à l'aide d'un agent de réticulation (acide adipique, anhydride acétique, trimétaphosphate de sodium, etc.).

Le greffage de groupements chimiques esters (succinate, acétate d'amidon) ou éthers (amidon hydropropylé) sur les fonctions hydroxyles des chaînes d'amylopectine et d'amylose permet de diminuer la température de gélatinisation de l'amidon, de diminuer les risques d'association des chaînes d'amylose et d'amylopectine, et par conséquent de limiter la rétrogradation de l'amidon. Les conditions utilisées pour les réactions chimiques sont contrôlées de manière à assurer un gonflement suffisant des granules (accessibilité des groupements hydroxyles) tout en maintenant leur intégrité.

2.3.1.2. Modifications physiques

Les traitements physiques permettent la formation de dextrines, d'amidons prégélatinisés, ou encore d'amidons extrudés. Les dextrines sont générées en appliquant un traitement thermique à des grains d'amidons à l'état sec. Les amidons prégélatinisés sont obtenus par cuisson sur cylindres chauffants. Ils gonflent dans l'eau froide, présentent un fort pouvoir épaississant et une haute digestibilité. Les amidons extrudés se différencient des amidons prégélatinisés par leur solubilité élevée.

2.3.1.3. Modifications enzymatiques

Les traitements enzymatiques sont de plus en plus utilisés pour la transformation de l'amidon. L'α-amylase et la pullulanase (enzyme déramifiante) permettent de préparer des maltodextrines et des sirops de glucose. La β-amylase est utilisée pour générer les sirops de maltose. Les glucose-isomérases convertissent le glucose en fructose. Les cyclodextrine-glucosyltransférases catalysent les réactions de cyclisation à l'origine des α- β- et γ-cyclodextrines constituées de 6, 7 ou 8 unités glucose liées en α-(1,4). Les produits issus de l'hydrolyse chimique et enzymatique (glucose et maltose) peuvent être réduits en sorbitol et maltitol. Ces polyols sont obtenus par hydrogénation en milieu aqueux, sous pression, à température élevée et en présence d'un catalyseur des sirops de dextrose et de maltose obtenus à partir de l'amidon.

2.3.2. Carraghénanes

Les carraghénanes sont des chaînes linéaires de carrabioses, constitués de deux dérivés galactoses (galactose sulfaté ou anhydrogalactose) liés en α(1-4), liées entre eux par une liaison α(1-3) (figure 210).

κ-carraghénane

ι-carraghénane

λ-carraghénane

Figure 210 ■ Structures chimiques des carraghénanes.

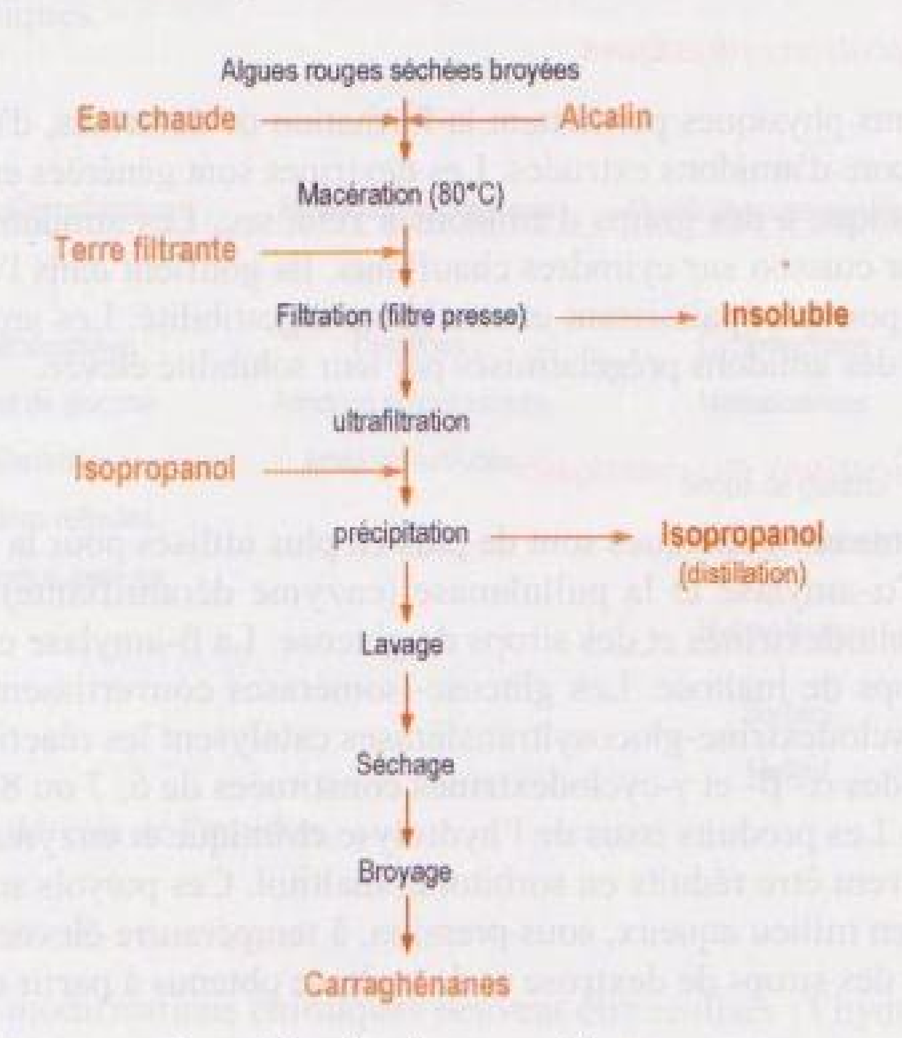


Figure 211 ■ Diagramme de purification des carraghénanes.

Les méthodes d'extraction sont basées sur le fait que les carraghénanes sont solubles dans l'eau chaude et insolubles dans les solvants organiques. Les carraghénanes sont extraits d'algues rouges (*Rhodophyceae*) séchées et broyées des genres

chondrus ou *gigartina* (figure 211). Les algues rouges réhydratées macèrent dans l'eau chaude à environ 80 °C en présence d'un alcalin (chaux, soude ou potasse) favorisant l'extraction et la solubilisation des carraghénanes. La fraction soluble contenant les carraghénanes (sirop) est séparée des impuretés insolubles par filtration à chaud sous pression (filtre-presse à toile) en présence de terre filtrante. Après concentration par évaporation ou filtration, le carraghénane en solution est précipité par adjonction d'isopropanol. Le précipité est ensuite lavé à l'eau, pressé et séché.

2.3.3. *Alginates*

Les alginates sont constitués d'acides β-D-mannuronique et β-L-guluronique répartis par blocs homogènes ou mixtes le long de la chaîne polysaccharidique (figure 212).

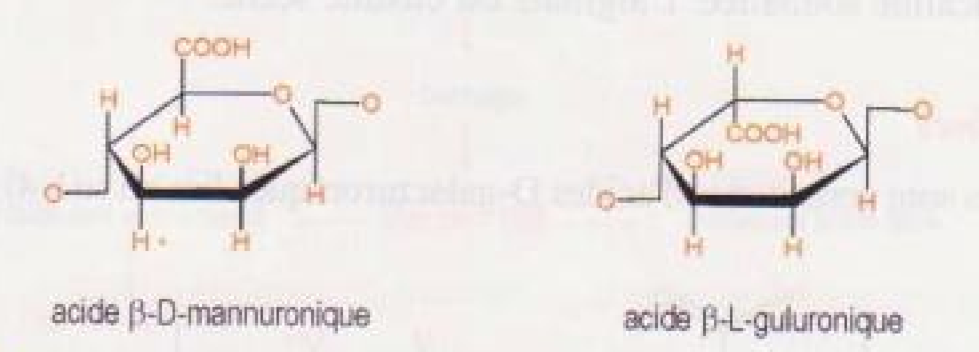


Figure 212 ■ Formules chimiques des acides β-D-mannuronique et β-L-guluronique.

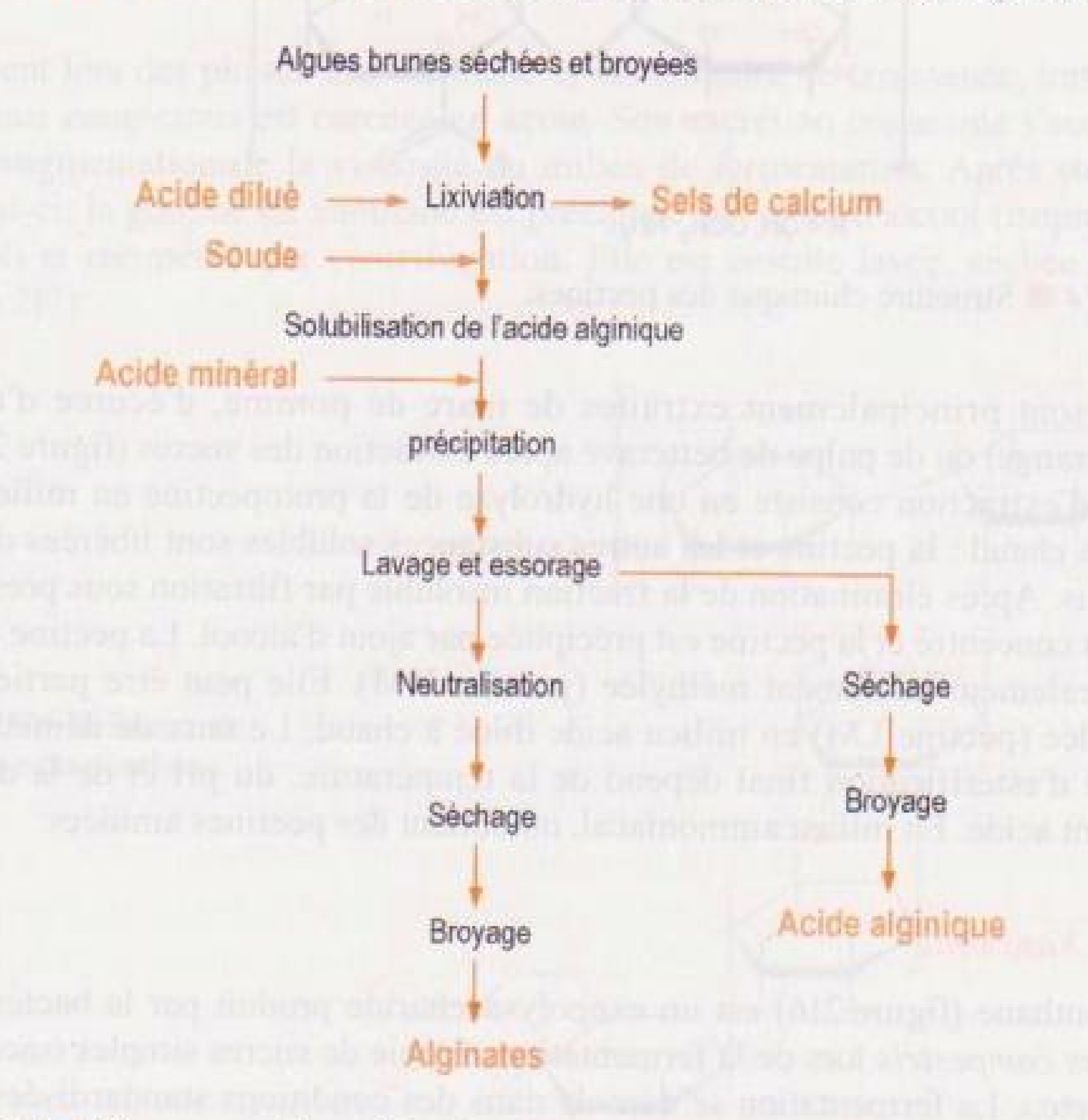


Figure 213 ■ Diagramme de purification de l'acide alginique et des alginates.

Les alginates sont extraits d'algues marines brunes (*Phaeophyceae*) sur la base de leurs propriétés de solubilité dans l'eau à pH neutre ou basique et de leur insolubilisation en milieu acide (figure 213). Dans les algues, les alginates sont essentiellement présents sous forme de sels de calcium insolubles. La première étape d'extraction consiste donc à réaliser un prétraitement de lixiviation de l'algue avec un acide minéral dilué afin de protoner les fonctions carboxyliques des alginates et transformer ainsi l'alginate de calcium en acide alginique. Les algues déminéralisées sont ensuite traitées en présence d'un alcalin (soude) afin de solubiliser l'acide alginique sous forme d'alginate de sodium. Après élimination des composés insolubles par filtration ou décantation, l'alginate de sodium est à nouveau précipité par addition d'un acide minéral. Le précipité est lavé, essoré et séché. L'industrie agroalimentaire utilise toute une gamme d'alginates (alginate de sodium, alginate de potassium, etc.) qui sont préparés à partir d'acide alginique par neutralisation avec la base alcaline souhaitée. L'alginate est ensuite séché.

2.3.4. Pectines

Les pectines sont constituées d'acides D-galacturoniques liés en α(1-4) (figure 214).

R = OH, OCH_3, NH_2

Figure 214 ■ Structure chimique des pectines.

Elles sont principalement extraites de marc de pomme, d'écorce d'agrume (citron, orange) ou de pulpe de betterave après extraction des sucres (figure 215). Le procédé d'extraction consiste en une hydrolyse de la protopectine en milieu acide dilué et à chaud ; la pectine et les autres substances solubles sont libérées dans ces conditions. Après élimination de la fraction insoluble par filtration sous pression, le filtrat est concentré et la pectine est précipitée par ajout d'alcool. La pectine obtenue est généralement hautement méthylée (pectine HM). Elle peut être partiellement déméthylée (pectine LM) en milieu acide dilué à chaud. Le taux de déméthylation ou degré d'estérification final dépend de la température, du pH et de la durée du traitement acide. En milieu ammoniacal, on obtient des pectines amidées.

2.3.5. Xanthane

Le xanthane (figure 216) est un exopolysaccharide produit par la bactérie *Xanthomonas campestris* lors de la fermentation aérobie de sucres simples (saccharose, lactose, etc.). La fermentation se déroule dans des conditions standardisées de pH, de température et d'apport en oxygène. La production de la gomme de xanthane

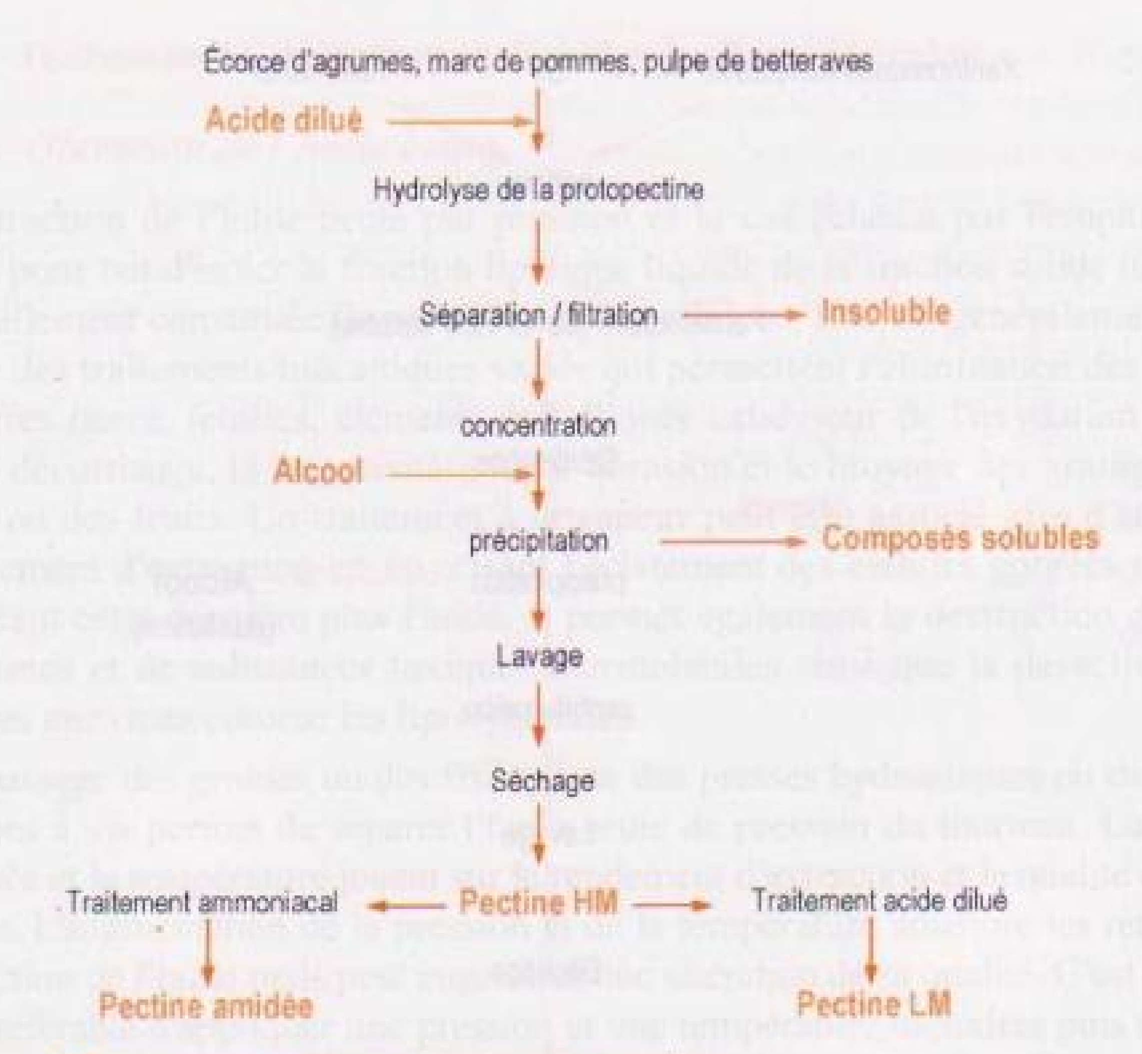


Figure 215 ■ Diagramme de purification des pectines.

intervient lors des phases exponentielle et stationnaire de croissance, lorsque *Xanthomonas campestris* est carencé en azote. Son excrétion croissante s'accompagne d'une augmentation de la viscosité du milieu de fermentation. Après stérilisation de celui-ci, la gomme de xanthane est précipitée par ajout d'alcool (isopropanol ou éthanol) et récupérée par centrifugation. Elle est ensuite lavée, séchée et broyée (figure 217).

Figure 216 ■ Structure chimique du xanthane.

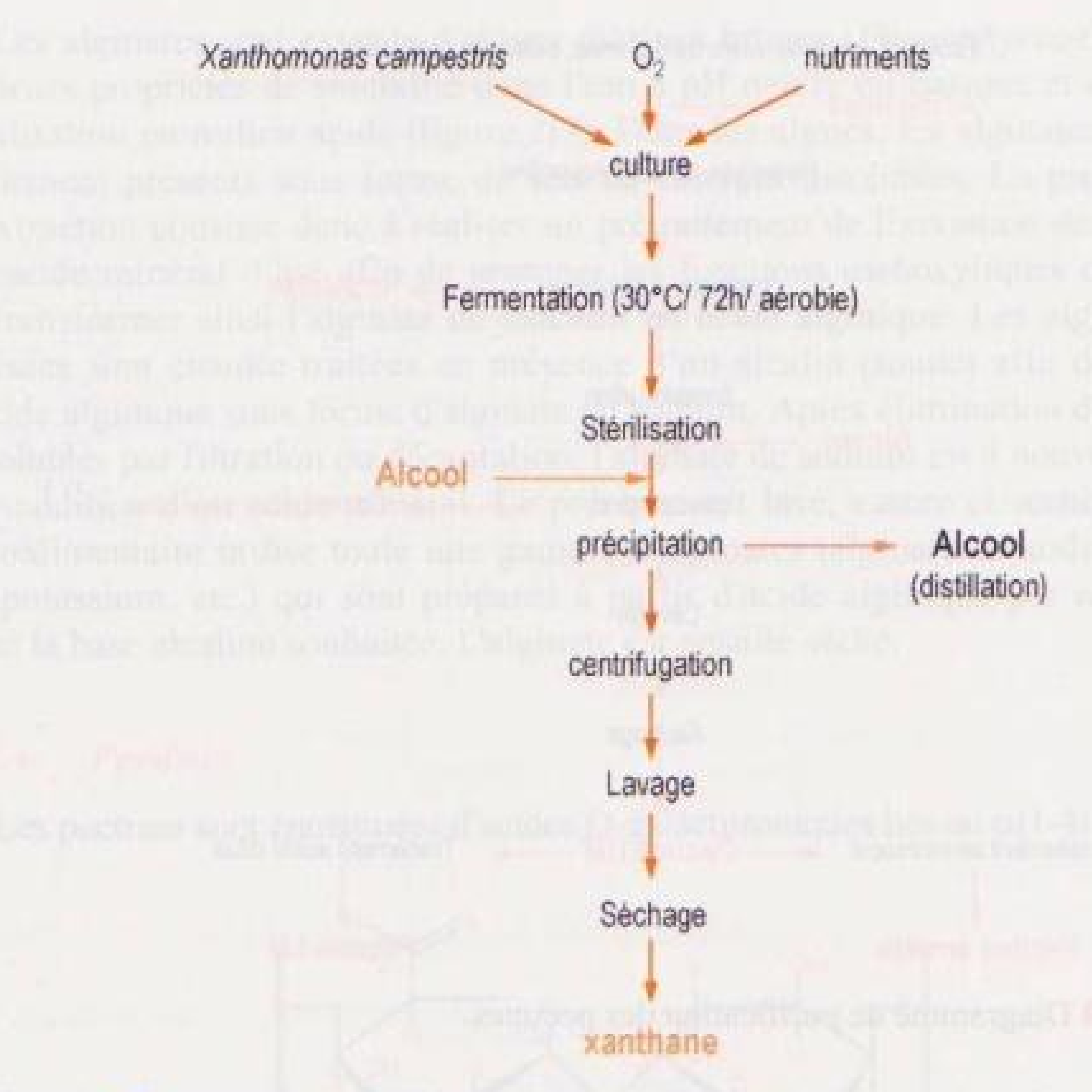


Figure 217 ■ Diagramme de purification du xanthane.

3. *Lipides*

La fraction lipidique constitue une part importante de la ration alimentaire tant par son apport énergétique que par sa fourniture en acides gras essentiels et en vitamines liposolubles (A, D, E, K). Elle participe également aux caractéristiques organoleptiques des produits qui les contiennent tant au niveau de la texture que de l'arôme. Les huiles ou graisses alimentaires sont extraites de graines oléagineuses, de la drupe et/ou du noyau et/ou de l'amande de certains fruits ou encore des tissus animaux et de poissons. Le choix de la méthode d'extraction des huiles ou des graisses dépend de la matière première. Pour les huiles, les procédés mettant en œuvre un traitement par pression suivi d'une extraction par solvant sont les plus largement employés. Bien souvent, l'huile brute ainsi obtenue n'est pas commercialisable en l'état et doit être raffinée, c'est-à-dire épurée de sa fraction non triglycéridique. Les graisses animales sont quant à elles obtenues par des opérations de fonte à partir de coproduit d'abattage, de boucherie et d'équarrissage.

La composition et les fonctionnalités nutritionnelle et technologique de la fraction lipidique des matières premières agricoles sont des variables subies. Pour répondre aux contraintes de l'industrie agroalimentaire et/ou à la demande des consommateurs, elles peuvent être adaptées par mélange d'huile d'origine diverse ou par modifications physico-chimiques (hydrogénation, trans-estérification, fractionnement).

3.1. Technologie de préparation des huiles végétales

3.1.1. Obtention de l'huile brute

L'extraction de l'huile brute par pression et le cas échéant par l'emploi de solvants a pour but d'isoler la fraction lipidique liquide de la fraction solide (tourteau), essentiellement constituée de protéines et de cellulose. Elle est généralement précédée par des traitements mécaniques variés qui permettent l'élimination des matières étrangères (terre, feuilles, éléments métalliques catalyseur de l'oxydation des lipides), le décorticage, la fragmentation par abrasion et le broyage des graines oléagineuses ou des fruits. Un traitement à la vapeur peut être associé afin d'augmenter le rendement d'extraction en favorisant l'éclatement des cellules gorgées d'huile et en rendant cette dernière plus fluide. Il permet également la destruction de micro-organismes et de substances toxiques thermolabiles ainsi que la désactivation de certaines enzymes comme les lipoxygénases.

Le passage des graines ou des fruits dans des presses hydrauliques ou des presses continues à vis permet de séparer l'huile brute de pression du tourteau. La pression appliquée et la température jouent sur le rendement d'extraction et la qualité de l'huile obtenue. L'augmentation de la pression et de la température améliore les rendements d'extraction de l'huile mais peut engendrer une altération de sa qualité. C'est pourquoi il est préférable d'appliquer une pression et une température moindres puis de procéder à une extraction à froid à l'aide d'un solvant organique. Parfois, seul le traitement par pression est appliqué (arachide, colza ou tournesol).

En sortie de presse, l'huile contient des débris solides qui sont éliminés par filtration sans pression à l'aide de grilles métalliques ascendantes équipées de raclettes métalliques, retenus sur des toiles filtrantes ou encore séparés par centrifugation. L'huile obtenue est généralement déshydratée pour réduire son taux d'humidité à moins de 0,1 % afin d'éviter tout risque d'hydrolyse des glycérides. La déshydratation se fait par pulvérisation de l'huile portée à 80-90 °C dans une enceinte sous vide.

Les « huiles d'olives vierges » sont des huiles obtenues à partir des pâtes d'olives broyées en appliquant exclusivement des procédés mécaniques (pression, décantation, centrifugation). L'huile est consommable immédiatement après extraction si les olives mises en œuvre sont saines et de bonne qualité. Les huiles tirées des olives récoltées encore vertes sont puissantes et fruitées, tandis que celles issues de fin de récolte sont plus jaunes et douces. Les procédés par pression permettent la séparation de la fraction liquide (mélange d'huile et d'eau qui pour 100 kg d'olive mise en œuvre contient 20 kg d'huile et 40 kg de margine pauvre en huile) et de la fraction solide (environ 40 kg de grignon contenant 10 à 15 % d'huile pour 100 kg d'olive). Une alternative est de remplacer l'opération de pression par une centrifugation en continu des pâtes d'olives broyées. Le procédé permet la séparation d'une phase solide (grignon) humide contenant 10 à 15 % d'huile résiduelle, une phase aqueuse (margine) pauvre en huile essentiellement sous forme d'émulsion et une phase grasse qui est l'huile vierge.

Après élimination de l'huile brute de pression, le tourteau contient une part d'huile qu'il est parfois rentable de valoriser. L'huile est extraite par percolation à l'aide d'un solvant (hexane) circulant le plus souvent à contre-courant des tourteaux

à déshuiler (figure 218). L'extraction par solvant accroît les quantités d'huile extraites et améliore simultanément la stabilité des tourteaux. Une fois l'huile extraite des tourteaux, le solvant est éliminé par distillation ; les vapeurs peuvent être réutilisées après condensation. Parallèlement, les tourteaux sortant de l'extracteur contiennent moins de un pourcent d'huile résiduelle, mais des teneurs élevées en solvant (environ 30 % de solvant en poids). L'élimination du solvant des tourteaux, à la chaleur ou sous vide, permet simultanément de le réutiliser et de valoriser ces derniers en alimentation animale et humaine. Les tourteaux sont finalement séchés pour éliminer toutes traces d'eau et de solvants résiduels. Par ailleurs, certaines huiles peuvent être directement extraites par solvant sans extraction préalable par pression.

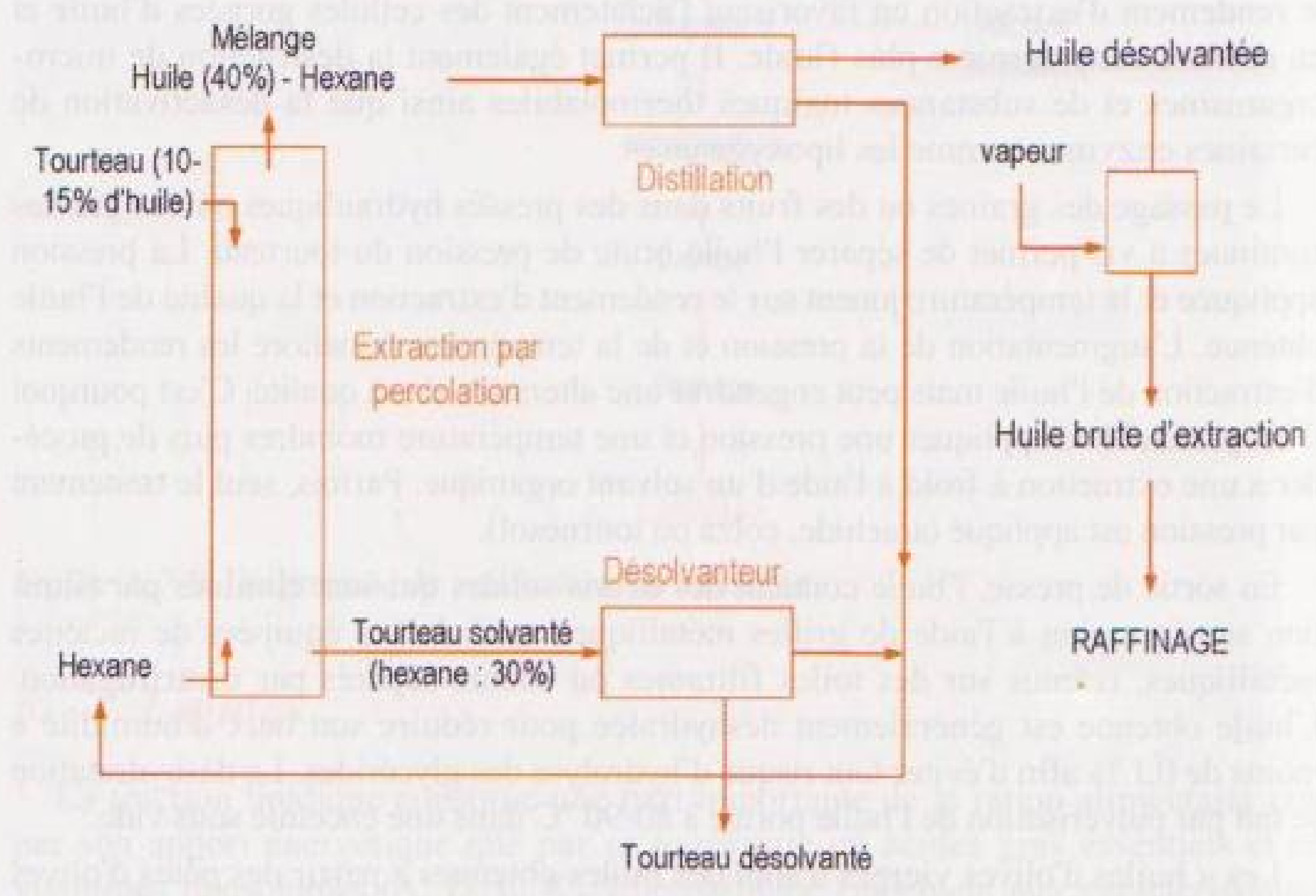


Figure 218 ■ Extraction d'huile des tourteaux par solvants.

La température et la teneur en eau des tourteaux influencent les performances de l'extraction par solvant. L'augmentation de la température améliore la diffusion et l'extraction de l'huile des tourteaux mais augmente les pertes de solvant. Généralement, les températures utilisées pour l'extraction sont légèrement inférieures à 60 °C, et les pertes de solvant sont constamment compensées. Les teneurs élevées en eau des tourteaux déshuilés augmentent le risque de collage de ces derniers dans les paniers d'extraction. En revanche, la présence d'eau facilite l'élimination du solvant après extraction de l'huile.

3.1.2. *Raffinage de l'huile brute*

L'huile brute d'extraction est un mélange de triglycérides, diglycérides, monoglycérides, acides gras libres, phospholipides, cires, pigments, stérols, vitamines, flavonoïdes, tannins, traces métalliques et de solvants. L'obtention d'une huile com-

mercialisable (aspect, qualités organoleptiques et stabilité) s'effectue par raffinage de l'huile brute. Le raffinage permet d'éliminer le matériel lipidique non triglycéridique. Il consiste en une succession d'opérations de dégommage ou démucilagination, de désacidification, de décoloration, de désodorisation et de séchage de l'huile brute.

3.1.2.1. Dégommage

En présence d'eau, les phospholipides forment des précipités dits de « mucilages » qui ne sont pas admis dans une huile de consommation. Le dégommage ou la démucilagination consiste à précipiter et éliminer les phospholipides des huiles brutes. Le dégommage s'effectue à l'eau (2 à 4 %) en présence d'acide, généralement l'acide phosphorique (0,1 à 0,3 %), sur une huile brute portée à 80 °C (figure 219). L'eau et les gommes ou mucilages sont séparés par décantation naturelle ou centrifugation. Le dégommage permet également l'élimination des protéines ou autres impuretés, en colloïdes ou en suspension dans l'huile. Les mucilages de certaines huiles peuvent être utilisés comme tensioactif (lécithine de soja par exemple).

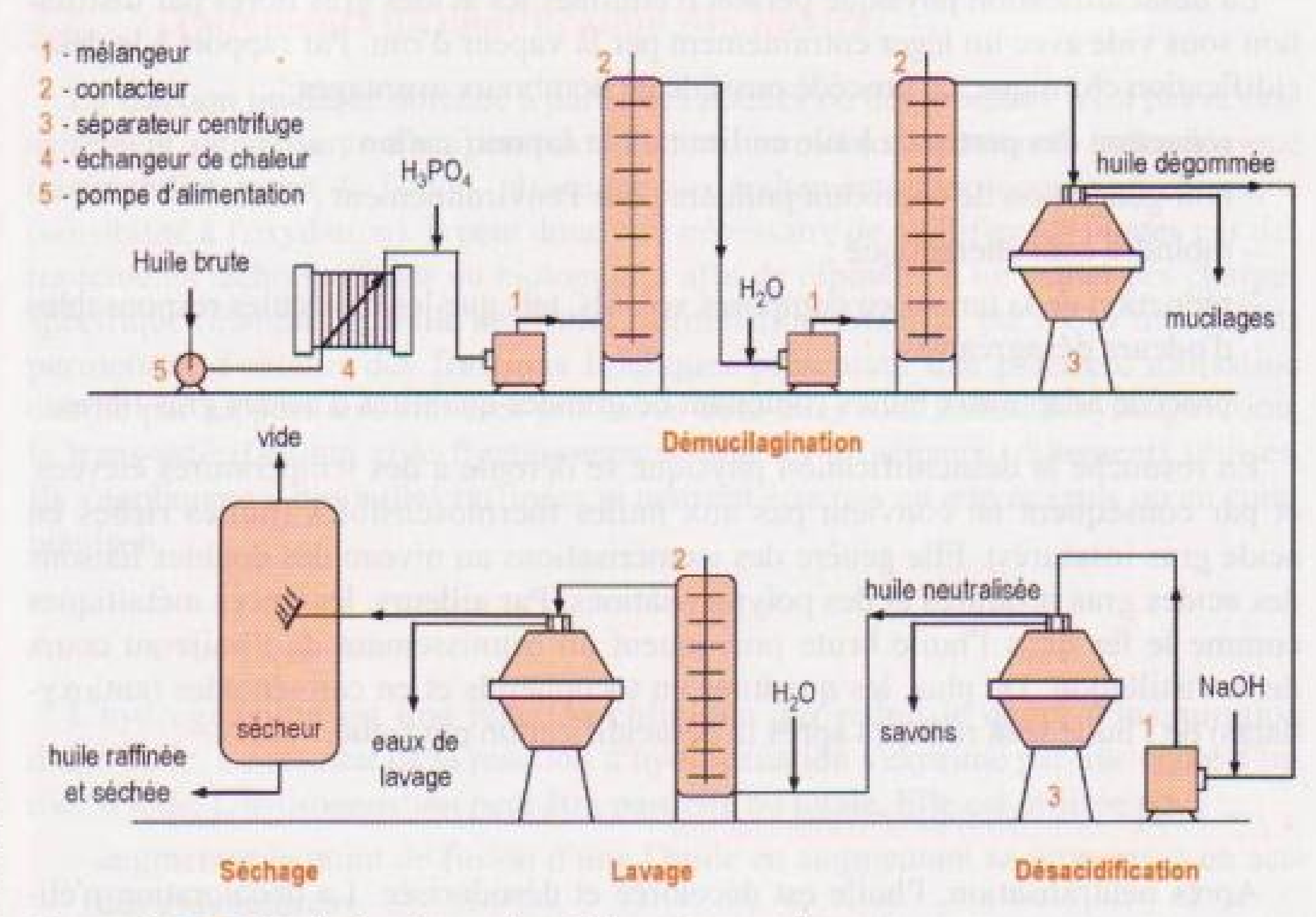


Figure 219 ■ Principales étapes du raffinage des matières grasses.

3.1.2.2. Désacidification

L'étape de désacidification ou neutralisation consiste en l'élimination des acides gras libres contenus dans l'huile brute. Les acides gras libres sont normalement absents de la fraction lipidique des cellules vivantes. Responsables de flaveurs indésirables, ils sont formés après récolte des graines oléagineuses et des fruits, après abattage des animaux par action de lipases ou au cours de traitements tech-

nologiques (chauffage par exemple). Deux procédés peuvent être employés pour la désacidification de l'huile, l'un chimique et l'autre physique.

Le premier, plus largement répandu, consiste en l'addition d'une base (soude) à de l'huile préalablement dégommée pour éviter tout risque d'émulsification. La neutralisation de l'huile induit soit la solubilisation dans la phase aqueuse, soit la précipitation des acides gras libres sous forme de savons qui sont éliminés par centrifugation en continu (figure 219). Ces derniers peuvent contenir jusqu'à 50 % de leur poids en huile. Par ailleurs, l'huile neutralisée doit immédiatement être lavée après élimination des savons afin d'éviter tout risque de saponification parasite des triglycérides par l'excès de soude. La neutralisation chimique constitue la majorité des pertes en huile au cours du raffinage et génère de grandes quantités d'effluents. De plus, elle réduit les teneurs en stérols, tocophérols et vitamines de l'huile qu'il convient de préserver compte tenu de leur rôle nutritionnel et antioxydant. Toutefois, la neutralisation chimique permet d'éliminer les phospholipides résiduels et les traces métalliques par précipitation et de détruire certains pigments, ce qui contribue à décolorer l'huile.

La désacidification physique permet d'éliminer les acides gras libres par distillation sous vide avec un léger entraînement par la vapeur d'eau. Par rapport à la désacidification chimique, ce procédé possède de nombreux avantages :

- réduction des pertes en huile en limitant la saponification ;
- non-génération de coproduit polluant pour l'environnement ;
- moindre coût énergétique ;
- réduction de la teneur en composés volatils, tels que les molécules responsables d'odeurs désagréables ;
- procédé adapté aux huiles contenant de grandes quantités d'acides gras libres.

En revanche la désacidification physique se déroule à des températures élevées, et par conséquent ne convient pas aux huiles thermosensibles (huiles riches en acide gras insaturés). Elle génère des isomérisations au niveau des doubles liaisons des acides gras insaturés et des polymérisations. Par ailleurs, les traces métalliques comme le fer dans l'huile brute provoquent un brunissement de l'huile au cours de la distillation. De plus, les quantités en tocophérols et en caroténoïdes (antioxydants) de l'huile sont réduites après la désacidification physique.

3.1.2.3. Décoloration et désodorisation

Après neutralisation, l'huile est décolorée et désodorisée. La décoloration n'élimine pas uniquement la chlorophylle, mais également les pigments caroténoïdes contenus dans l'huile. Il s'agit donc d'un compromis entre l'élimination de composés qui réduisent la stabilité de l'huile (chlorophylle) de ceux qui la protègent contre les phénomènes oxydatifs (caroténoïdes). Pour la décoloration, l'huile portée à 100 °C environ est mise en contact avec du charbon activé ou d'autres adsorbants puis filtrée.

La dernière étape du procédé de raffinage de l'huile brute est sa désodorisation pour éliminer certains composés volatils comme les aldéhydes et les cétones, souvent responsables d'odeurs désagréables, ou bien encore les acides gras libres rési-

duels plus sensibles à l'oxydation que les triglycérides. La désodorisation s'effectue par distillation sous vide à une température proche de 200 °C. L'absence d'air est impérative et les chauffages prolongés à température élevée doivent être limités pour éviter les réactions de polymérisation. Des antioxydants sont parfois ajoutés à l'huile avant désodorisation afin de prévenir les risques d'oxydation. La désodorisation est particulièrement nécessaire pour les huiles de poissons et de certaines graines oléagineuses. Lors de la désodorisation, une partie des phytostérols est éliminée dans le distillat. Ils peuvent être purifiés à partir des distillats pour être réincorporés tels quels, sous forme d'ester de phytostérols (obtenus par estérification des phytostérols par des acides gras) ou encore de phytostanols (obtenus par hydrogénation des phytostérols) dans divers produits alimentaires de base lipidique comme les margarines.

L'huile est finalement déshydratée pour éliminer toute trace d'humidité, responsable de l'hydrolyse des triglycérides, et placée à l'abri de l'oxygène par un conditionnement sous azote par exemple.

3.2. Traitements de modification des lipides

La fraction lipidique obtenue à partir des plantes ou des animaux n'est pas nécessairement satisfaisante d'un point de vue nutritionnel (composition), technologique (tartinabilité, point de fusion, résistance aux traitements thermiques) ou chimique (sensibilité à l'oxydation). Il peut donc être nécessaire de modifier les lipides par des traitements technologiques ou biologiques afin de répondre à un cahier des charges spécifique (margarine, huile de friture, formulation infantile, etc.). Ces traitements permettent d'obtenir des fractions lipidiques présentant une palette d'utilisation élargie par rapport aux matières premières dont elles sont issues. L'hydrogénation, la trans-estérification et le fractionnement sont les principaux traitements utilisés. Ils s'appliquent à des huiles raffinées et peuvent être mis en œuvre seuls ou en combinaison.

3.2.1. Hydrogénation

L'hydrogénation est une réaction chimique qui réduit le degré d'insaturation d'une huile. Le résultat de la réaction d'hydrogénation s'exprime par une chute d'indice d'iode. L'hydrogénation peut être partielle ou totale. Elle est utilisée pour :

- augmenter le point de fusion d'une l'huile en augmentant sa proportion en acides gras saturés ;
- améliorer la stabilité de l'huile vis-à-vis de l'oxydation.

Par ailleurs, l'hydrogénation réduit la proportion d'acides gras polyinsaturés et donc la valeur nutritionnelle de l'huile. L'hydrogénation est généralement bien adaptée pour augmenter le point de fusion ou stabiliser les huiles fortement insaturées comme les huiles de colza, de soja ou encore de poisson. On l'utilise également pour réduire l'insaturation de matière grasse faiblement insaturée comme l'huile de coprah.

Les modifications induites par les traitements dépendent du taux d'hydrogénation appliqué (pourcentage de double liaison hydrogénée) et de la sélectivité de la

réaction. La sélectivité correspond à l'hydrogénation préférentielle de certaines doubles liaisons des acides gras polyinsaturés (par exemple, l'acide linolénique) selon les rapports des constantes de vitesse k_1/k_2 et k_2/k_3 :

$$18:3 \xrightarrow{k_1} 18:2 \xrightarrow{k_2} 18:1 \xrightarrow{k_3} 18:0 \qquad [101]$$

À titre d'exemple, lorsque le rapport des constantes de vitesse k_2/k_3 est élevé (de l'ordre de 50 à 100), l'hydrogénation partielle conduit à la formation de nombreux acides gras mono-insaturés sans modification importante du taux d'acides gras saturés.

Parallèlement à la diminution de l'insaturation des chaînes d'acides gras, l'hydrogénation partielle génère des isomères de position, des acides gras conjugués et des acides gras *trans*. Pour une même longueur de chaîne, les acides gras *trans* présentent un point de fusion plus élevé que les acides gras *cis* sans changement de l'indice d'iode. La présence des acides gras *trans* dans les aliments fait l'objet de débats à l'heure actuelle, car ils pourraient contribuer à la survenue de maladies cardio-vasculaires en influençant les paramètres athérogènes. L'hydrogénation partielle de triglycérides constitués de trois chaînes d'acides oléiques (trioléine) génère une diversité de triglycérides contenant des acides oléique, élaïdique (isomère *trans* de l'acide oléique) et/ou stéarique. Son hydrogénation totale ne forme que des tristéarines. L'isomérisation des doubles liaisons est favorisée lorsqu'il y a un déficit en molécules d'hydrogène à la surface du catalyseur, ce qui limite la vitesse de la réaction d'hydrogénation. Ainsi, l'isomérisation est favorisée par de faibles pressions en hydrogène, des températures élevées, une faible agitation, une matière grasse fortement insaturée ou encore une concentration et/ou une activité trop élevées du catalyseur.

La réaction d'hydrogénation se déroule en milieu hétérogène contenant une phase gaz (hydrogène), une phase liquide (huile) et une phase solide (catalyseur). Elle s'effectue à la surface du catalyseur (généralement le nickel) et est exothermique. Son bon déroulement nécessite une agitation intense afin d'améliorer les transferts entre les trois phases et de permettre une répartition homogène de l'hydrogène et du catalyseur dans l'huile à hydrogéner. La température, la pression en hydrogène, l'activité du catalyseur et sa concentration, l'agitation et le temps de réaction sont les principaux facteurs affectant l'hydrogénation d'une huile.

La réaction d'hydrogénation s'effectue dans une enceinte hermétique généralement à une température comprise entre 150 et 200 °C et sous une pression de 0,3 MPa. L'enceinte est remplie au deux tiers d'huile à hydrogéner en présence de catalyseur (figure 220). Le catalyseur doit avoir à la fois une activité et une sélectivité élevée et pouvoir être facilement éliminé de l'huile hydrogénée. L'activité, la sélectivité et la dispersibilité dans l'huile des catalyseurs augmentent lorsque la taille des particules diminue ; en revanche, leur récupération est plus délicate lorsque la réaction est terminée. L'huile soumise à l'hydrogénation doit être raffinée et déshydratée car les catalyseurs sont rapidement inactivés par la présence d'acides gras libres, de produits d'oxydation des lipides, de molécules d'eau ou de composés soufrés. Les huiles de colza contiennent des composés organiques soufrés (issus des thioglucosides dans les graines) qui ne sont pas éliminés par les traitements

chimiques du raffinage. Lors de la réaction d'hydrogénation, ces derniers empoisonnent les catalyseurs qui doivent donc être surdosés. Enfin, l'hydrogène est mis en circulation dans l'huile par bullage avec un système de recirculation (l'hydrogène injecté dans l'huile est soutiré dans l'espace de tête de l'enceinte avant d'être à nouveau réinjecté).

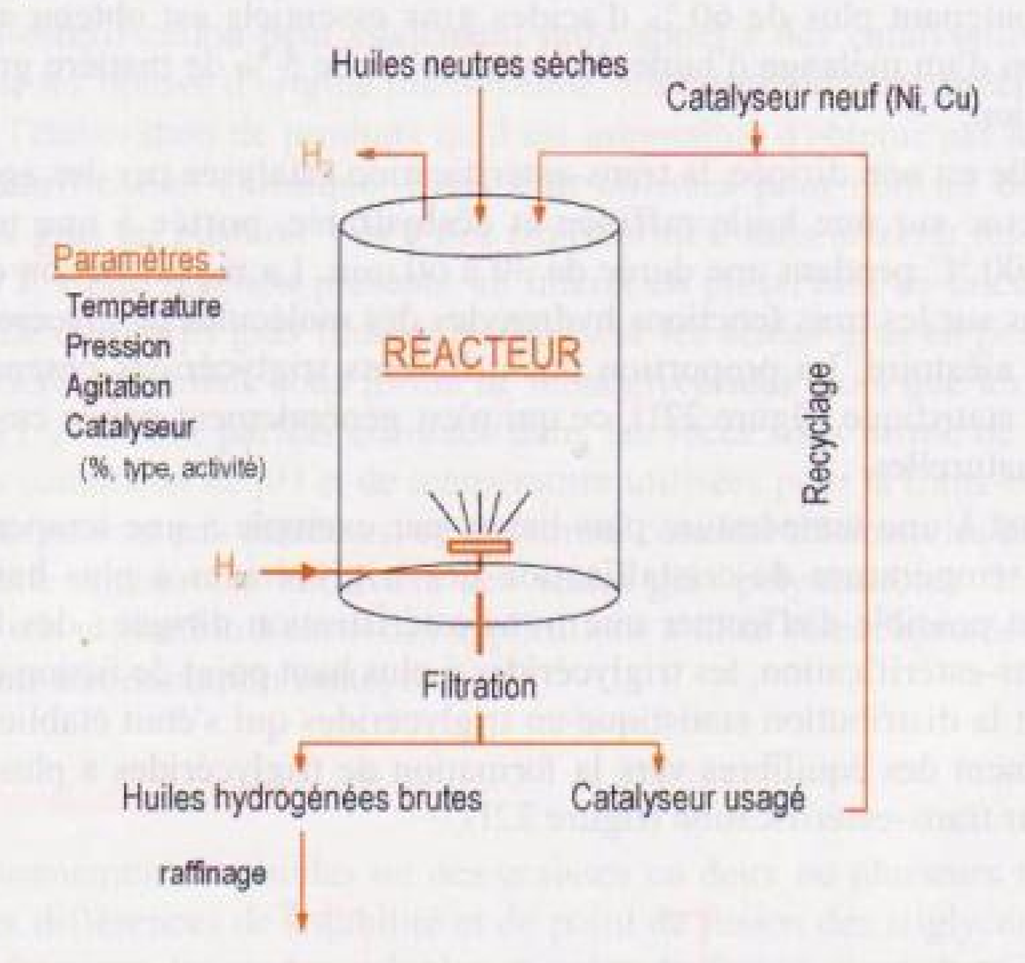


Figure 220 ■ Principe schématique de l'hydrogénation des huiles et des graisses.

Lorsque le degré d'hydrogénation ou l'indice d'iode souhaité est atteint, le catalyseur est éliminé du milieu réactionnel par filtration. La température de filtration est abaissée à 90 °C pour limiter les risques d'oxydation, puis maintenue à cette température pour éviter l'augmentation de viscosité. Le catalyseur récupéré est purifié avant d'être réutilisé. Une fois hydrogénée, la matière grasse est raffinée pour éliminer les dernières traces de catalyseur, les défauts de coloration qui ont pu apparaître lors de la réaction, etc.

3.2.2. *Trans-estérification*

La trans-estérification est une modification de la structure des triglycériques par un réarrangement intra- ou intermoléculaire des chaînes d'acide gras sur les molécules de glycérol. La trans-estérification peut être catalysée par des agents chimiques (alcoolates alcalins comme le méthylate de sodium par exemple) ou des enzymes. Elle permet de modifier les caractéristiques physiques de la matière grasse (propriétés de fusion et de cristallisation) sans modifier sa composition en acides gras. La matière grasse de porc (saindoux) possède une forte proportion d'acide palmitique en position 2 des triglycérides. Elle cristallise sous forme de cristaux β. Après trans-estérification, la répartition aléatoire des chaînes d'acide gras sur les molécules de glycérol modifie les propriétés de cristallisation (cristallisation

sous forme de cristaux β') et les propriétés fonctionnelles de la matière grasse. Elle constitue alors une alternative intéressante à l'hydrogénation partielle des huiles en ne générant pas d'acides gras *trans*. Des margarines sans acides gras *trans* peuvent être obtenues en soumettant à la trans-estérification un mélange d'huile de palme totalement hydrogénée et d'huile de tournesol. Un corps gras solide (margarine par exemple) contenant plus de 60 % d'acides gras essentiels est obtenu après trans-estérification d'un mélange d'huile de tournesol et de 5 % de matière grasse à haut point de fusion.

Lorsqu'elle est non dirigée, la trans-estérification catalysée par des agents chimiques s'effectue sur une huile raffinée et déshydratée, portée à une température proche de 100 °C pendant une durée de 30 à 60 min. La redistribution des chaînes d'acides gras sur les trois fonctions hydroxyles des molécules de glycérol s'effectue de manière aléatoire. La proportion des différents triglycérides obtenus suit une distribution statistique (figure 221), ce qui n'est généralement pas le cas des huiles et graisses naturelles.

En opérant à une température plus basse, par exemple à une température inférieure à la température de cristallisation des triglycérides à plus haut point de fusion, il est possible d'effectuer une trans-estérification dirigée ; dès leur formation par trans-estérification, les triglycérides à plus haut point de fusion cristallisent et modifient la distribution statistique en triglycérides qui s'était établie. Il s'ensuit un déplacement des équilibres vers la formation de triglycérides à plus haut point de fusion par trans-estérification (figure 221).

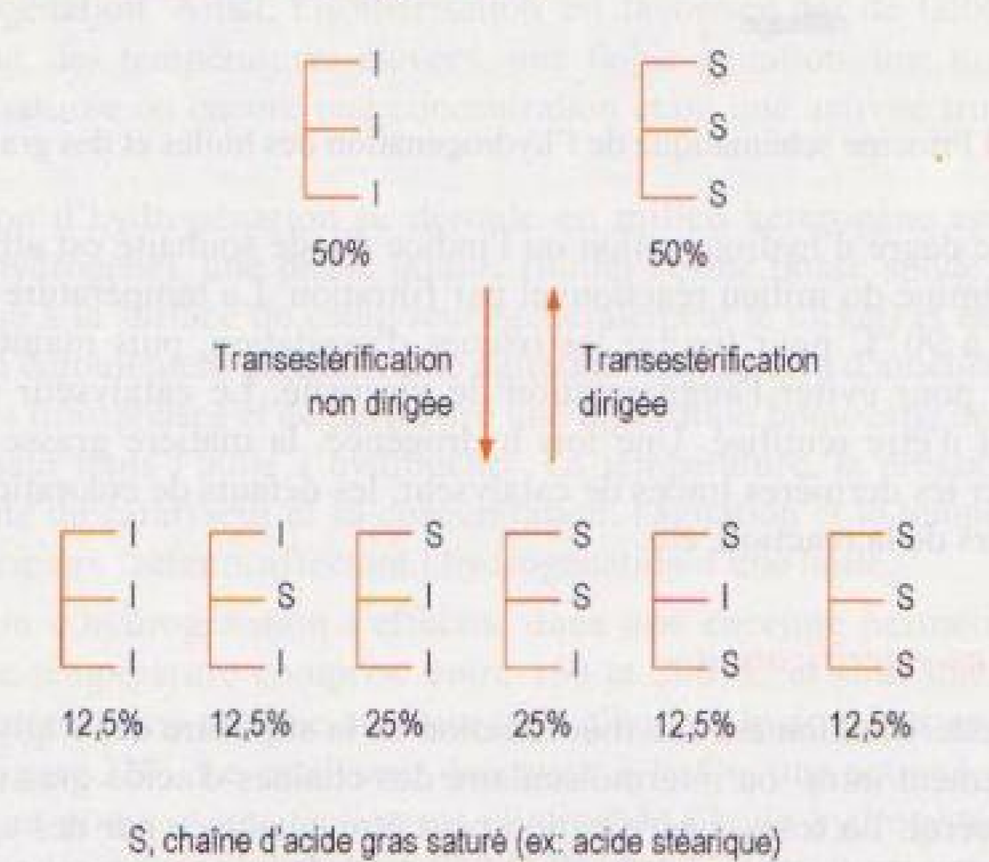


Figure 221 ■ Trans-estérification dirigée et non dirigée.

À l'issue de la trans-estérification, le catalyseur est inactivé par addition d'eau dans le milieu réactionnel. La matière grasse trans-estérifiée est débarrassée de ses savons, formés au contact de l'eau, puis déshydratée sous vide pour éliminer toute

trace d'humidité. Cette dernière opération permet de surcroît d'éliminer les esters méthyliques formés lors de la réaction de trans-estérification. Durant les réactions de trans-estérification catalysée par des agents chimiques, les tocophérols libres peuvent être estérifiés et perdre de ce fait leur activité antioxydante. En revanche, l'estérification n'affecte pratiquement pas leur activité vitaminique.

La trans-estérification peut également faire appel à des catalyseurs enzymatiques comme les lipases d'origine microbienne. En raison de leurs spécificités, elles permettent l'élaboration de produits qu'il est impossible d'obtenir par les méthodes de trans-estérification chimique. Elles sont utilisées pour réaliser des échanges entre acides gras en position 1 et 3 des triglycérides, sans affecter les acides gras en position 2. Cette réaction présente un intérêt en préservant au mieux la qualité nutritionnelle des corps gras trans-estérifiés, car les acides gras en position 2 passent la barrière intestinale sous forme de monoglycérides alors que les acides gras en position 1 et 3 sont parfois éliminés dans les fèces sous forme de savons. Par ailleurs, les conditions de pH et de température utilisées pour la trans-estérification enzymatique ne sont pas extrêmes, ce qui limite considérablement les altérations au sein de l'huile notamment au niveau des acides gras polyinsaturés. Toutefois, son coût limite son utilisation à certaines applications à forte valeur ajoutée (laits infantiles, produits à connotation santé, etc.).

3.2.3. Fractionnement

Le fractionnement des huiles ou des graisses en deux ou plusieurs fractions est basé sur des différences de solubilité et de point de fusion des triglycérides constitutifs. Les fractions les moins solubles, à point de fusion élevé, sont dénommées *stéarine*, tandis que les fractions les plus solubles, à bas point de fusion, sont appelées *oléine*. Le fractionnement à plusieurs objectifs :

- éliminer la faible quantité de triglycérides ou autres matériels lipidiques à plus haut point de fusion qui auraient tendance à troubler l'huile lors du stockage à basse température. C'est par exemple le cas du décirage de l'huile de tournesol à 5 °C ;
- obtenir deux ou plusieurs fractions qui offrent ensemble un plus grand spectre d'utilisation que la matière première d'origine ou qui répondent à des applications précises. C'est par exemple le cas du fractionnement du suif, de la matière grasse laitière anhydre (MGLA) ou de l'huile de palme en une fraction oléine et une fraction stéarine. La fraction oléine de l'huile de palme est une excellente huile de friture, tandis que sa fraction stéarine est employée en margarinerie. L'obtention d'une fraction d'huile de palme à point de fusion intermédiaire présente un intérêt en substitution du beurre de cacao. La fraction oléine de la MGLA trouve une application dans l'élaboration des beurres frigotartinables. La pâtisserie industrielle utilise quant à elle des fractions stéarines à point de fusion contrôlée ;
- constituer une alternative aux autres traitements de modification des lipides comme l'hydrogénation.

Le fractionnement d'une matière première lipidique peut théoriquement se répéter à l'infini. Cependant, les fractionnements de plus en plus ciblés (succession de

fractionnement) génèrent parfois des fractions complémentaires qu'il est difficile de valoriser. Ainsi, ces procédés ne sont commercialement viables que si la fraction lipidique cible s'emploie dans des applications à forte valeur ajoutée.

Industriellement, le fractionnement a lieu essentiellement par cristallisation fractionnée (figure 222). La matière première lipidique à l'état fondu est soumise à une cristallisation partielle par contrôle des conditions de refroidissement. L'objectif est d'obtenir des cristaux lipidiques à haut point de fusion suffisamment gros pour permettre une séparation aisée. La cristallisation s'effectue en condition de sur refroidissement sous agitation contrôlée pour favoriser les transferts de chaleur et de matière ; en effet, dans le voisinage immédiat des cristaux en croissance, la température est supérieure en raison du caractère exothermique de la cristallisation des triglycérides, et la concentration en triglycérides susceptibles de cristalliser est inférieure. Cependant une agitation trop intense peut réduire la taille des cristaux en croissance, qu'il sera d'autant plus difficile de récupérer.

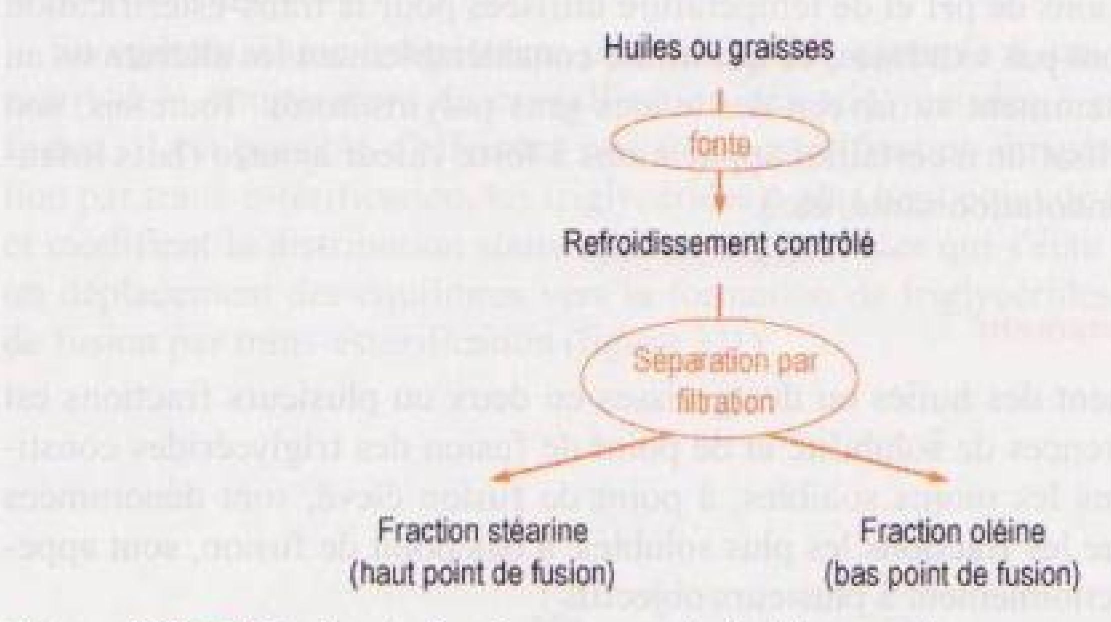


Figure 222 ■ Principe du fractionnement des huiles et graisses.

Lorsque la cristallisation est terminée (après plusieurs heures), les fractions stéarine et oléine sont séparées le plus souvent par filtration, en continu ou filtre-presse (figure 223). La fraction oléine est éliminée au travers des pores d'une membrane de filtration alors que les cristaux à haut point de fusion sont retenus dans le rétentat. L'application d'une pression sur la galette de stéarine permet de libérer la fraction oléine occluse entre les cristaux de stéarine.

4. Pigments et arômes

Les matières premières d'origine agricole, notamment d'origine végétale, contiennent une grande variété de constituants d'intérêt organoleptique que l'on cherche à extraire pour répondre aux marchés des arômes et colorants naturels. Ces opérations constituent une excellente valorisation des excédents de production ou des coproduits issus d'une première transformation.

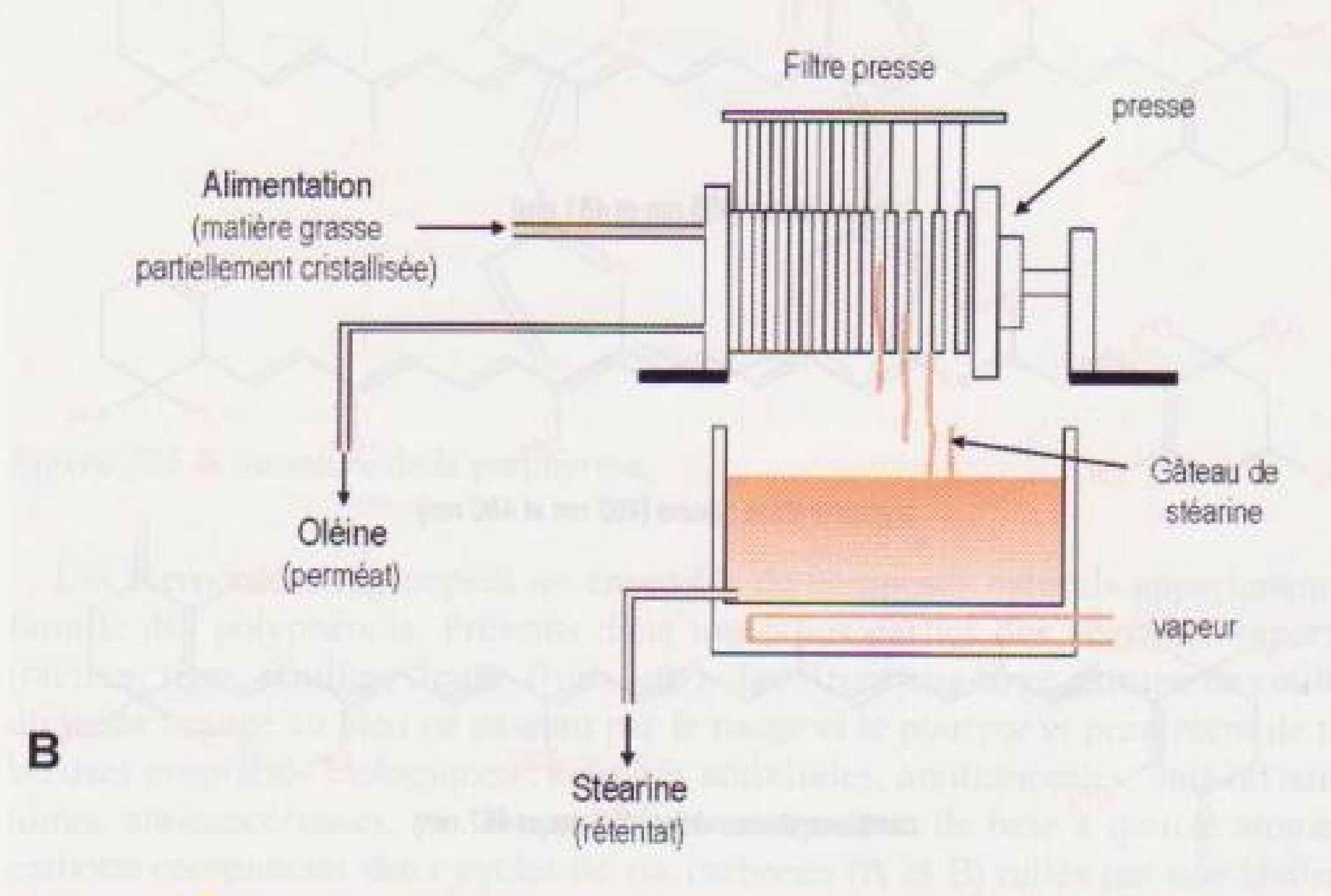


Figure 223 ■ Fractionnement des huiles et graisses par filtration en continu (A), filtre presse (B).

4.1. Nature des pigments et arômes

Les principaux pigments naturels peuvent se classer en quatre catégories :

– les caroténoïdes parmi lesquels le β carotène, le lycopène, les xanthophylles, etc. ;
– les pigments porphyriniques : chlorophylles, pigments héminiques ;

β-carotène : orange (466 nm et 496 nm)

lycopène : rouge (446 nm, 472 nm et 505nm)

capsantéine : rouge (483 nm)

lutéine : jaune (453 nm et 481 nm)

cryptoxanthine : jaune (452 nm et 480 nm)

canthaxanthine : violet (464 nm et 467 nm)

bixine : jaune (475 nm et 509 nm)

Figure 224 ■ Structure des principaux caroténoïdes et xanthophylles (d'après Linden et Lorient, 1994).

– les flavonoïdes et dérivés ;
– les bétalaïnes.

Les caroténoïdes sont des pigments extraits de fruits (pêches, cerises, oranges, fraises, etc.), de légumes (carottes, tomates, etc.) et de fleurs. Ces molécules, qui présentent une large gamme de couleur, sont constituées d'enchaînements d'unités isopréniques ; un certain nombre de ces constituants sont décrits sur la figure 224. Ces pigments, outre leurs propriétés colorantes, présentent des propriétés antioxydantes susceptibles de limiter le stress oxydatif impliqué dans le vieillissement cellulaire ; en contrepartie, ils sont très sensibles à l'action de l'oxygène et de la lumière.

Les pigments porphyriniques sont constitués d'un hétérocycle appelé porphyrine comprenant quatre sous-unités de pyrrole (figure 225) ; cet hétérocycle peut chélater en son milieu un certain nombre de métaux (Fe, Mg, Mn, Cu, Zn, etc.) : les porphyrines complexant un atome de fer sont appelées hèmes (hémoglobine) et celles intégrant un atome de magnésium forment la famille des chlorophylles.

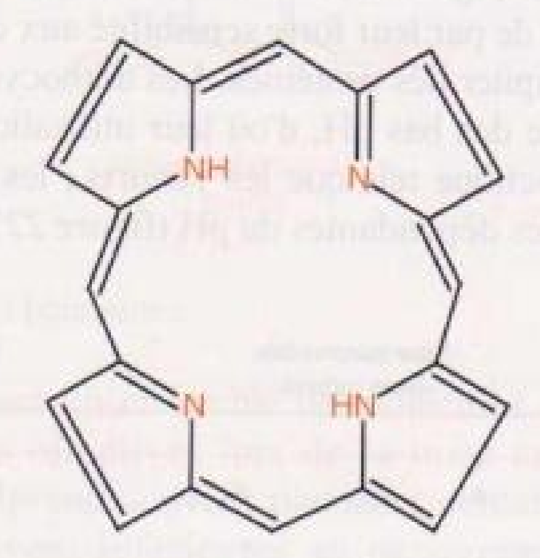


Figure 225 ■ Structure de la porphyrine.

Les flavonoïdes regroupent un ensemble de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs (racines, tiges, feuilles, fleurs, fruits, etc.), ils offrent une large gamme de couleurs, du jaune orangé au bleu en passant par le rouge et le pourpre et présentent de nombreuses propriétés biologiques : activités antivirales, antitumorales, anti-inflammatoires, anticancéreuses, etc. Ils possèdent un squelette de base à quinze atomes de carbone comprenant deux cycles de six carbones (A et B) reliés par une chaîne de trois carbones.

Les composés de cette famille se distinguent par le nombre, la position et la nature des substituants (hydroxy, méthoxy et autres) sur les deux cycles A et B et la chaîne en C3. À l'état naturel, une ou plusieurs fonctions hydroxyles sont glycosylées ; la partie du flavonoïde autre que le glucide est appelée aglycone. Les trois sous-groupes de cette famille les plus importants sont les anthocyanes, les flavones et flavonols ; dans ce type de molécules, la chaîne en C3 forme un cycle par interaction avec un groupement hydroxyle du cycle A. Les anthocyanes possèdent un groupement hydroxyl en position 3, les flavones une fonction carbonyle

en position 4 et les flavonols une fonction carbonyle en position 4 et une fonction hydroxyle en position 3 (figure 226).

Figure 226 ■ Structure générale des flavonoïdes.

Les anthocyanes qui possèdent une large palette de couleurs sont souvent glycosylées en position 3 et 5 et les sucres les plus fréquents sont le glucose, le galactose, le rhamnose et l'arabinose, qui peuvent être acylés par différents acides (coumarique, cinnamique, caféique, férulique, etc.) ; malgré la présence de ces sucres qui augmente la solubilité et la stabilité des pigments, l'utilisation des anthocyanes demeure limitée à certains types de produits de par leur forte sensibilité aux conditions physico-chimiques et leur capacité à précipiter des protéines. Les anthocyanes présentent une assez bonne stabilité dans la zone des bas pH, d'où leur utilisation dans les jus de fruit et produits de fermentation lactique tels que les yaourts ; les propriétés spectrales des anthocyanes sont en effet très dépendantes du pH (figure 227).

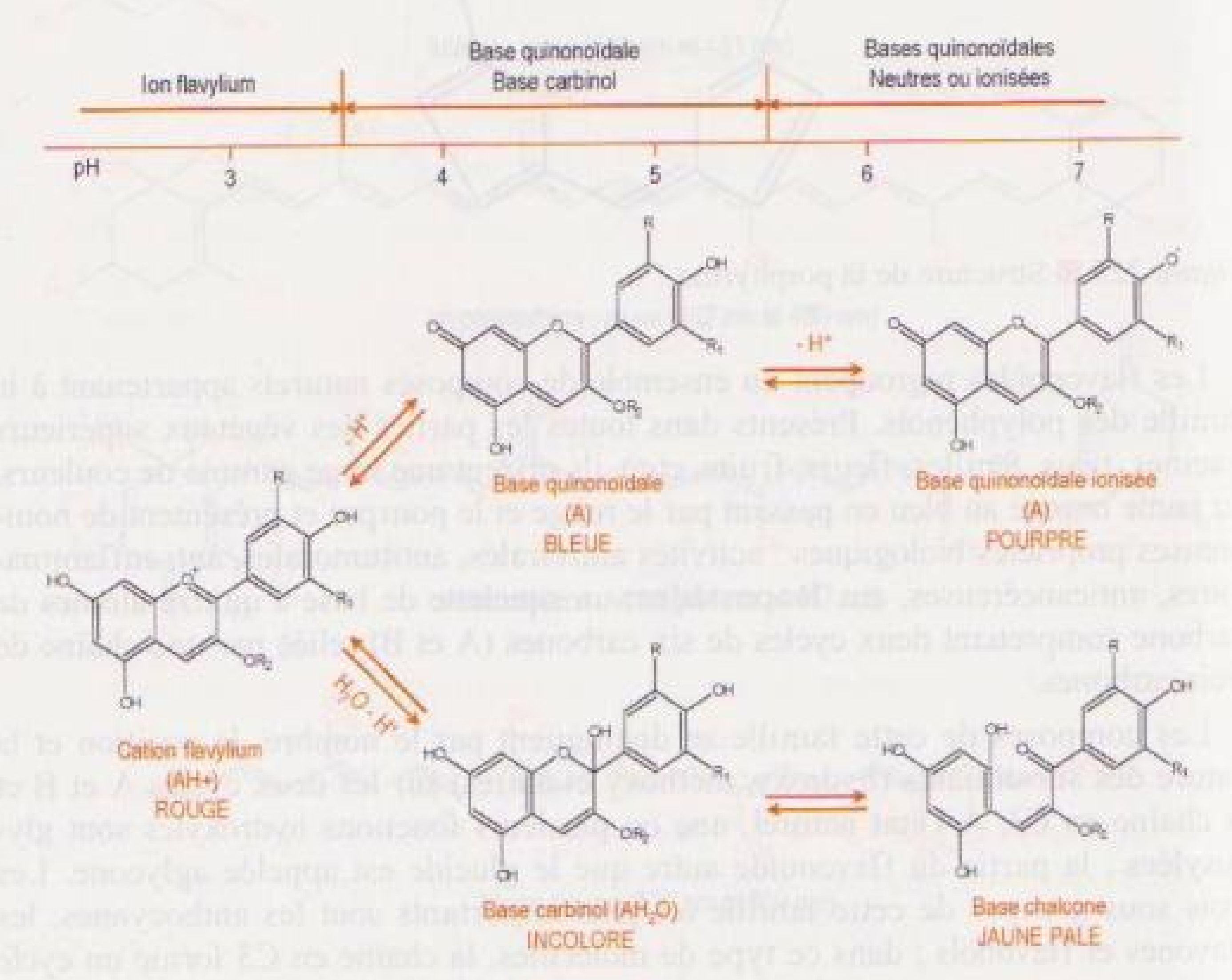


Figure 227 ■ Influence du pH sur la structure et propriétés colorantes des anthocyanes (d'après Linden et Lorient, 1994).

Les bétalaïnes constituent les pigments rouges-pourpres et jaunes de la betterave (*Beta vulgaricus*). Ces pigments ont en commun un azacyclohexène sur lequel se trouvent deux fonctions carboxyles et un immonium (figure 228), qui correspond à l'azote d'un α aminoacide linéaire (vulgaxanthène) ou cyclique (bétanidine). Leur caractère amphotère leur confère une bonne solubilité dans l'eau dans une large gamme de pH, mais une sensibilité aux traitements thermiques ce qui pose des problèmes pour élaborer des concentrés stériles.

Structure de base

Vulgaxanthène I et II
I : R=NH2
II : R=H

Bétanidine (R=H)
Glucose bétanidine (R=glucose)

Figure 228 ■ Structure des bétalaïnes.

Les arômes représentent un ensemble de molécules qui sont entraînées à l'état gazeux vers les cellules olfactives lors de la mise en bouche de l'aliment ; la fraction aromatique comprend souvent plusieurs centaines de molécules dont les concentrations sont souvent inférieures au nanogramme par kilogramme. Les molécules aromatiques sont de faibles poids moléculaires et possèdent une pression de vapeur suffisamment élevée à pression atmosphérique et température ambiante pour qu'une fraction puisse atteindre les muqueuses olfactives par voie rétronasale.

La connaissance des constituants aromatiques des matières premières et des aliments a progressé très rapidement à partir de 1970 grâce au développement du couplage chromatographie phase gazeuse/spectrométrie de masse ; des milliers de composés, appartenant aux différentes classes de la chimie organique, ont ainsi pu être identifiés. On y trouve :

– des hydrocarbures dont beaucoup sont de nature terpénique résultant de la condensation d'isoprènes ;
– des aldéhydes, des cétones, des alcools, des thiols issus du métabolisme des acides aminés et des acides gras ;
– des acides volatils, des esters d'origine fermentaire ;
– des amines volatiles provenant de la décarboxylation des acides aminés ;
– des hétérocycles (furane, pyrazine, etc.) caractéristiques des produits de pyrolyse de dérivés glucidiques en présence de protéines ;
– des phénols issus de la dégradation de la lignine.

Les caractéristiques aromatiques d'un aliment peuvent parfois résulter des propriétés olfactives d'une ou de plusieurs molécules (figure 229).

Oct-1-èn-3-ol : champignon — Heptan-2-one : fromage — Isothiocyanate d'allyle : moutarde

Eugénol : girofle — Vanilline : vanille — Menthol : menthe

γ-Hexalactone + γ-Décalactone + δ-Décalactone = pêche

Figure 229 ■ Exemples de molécules aromatiques.

Dans la plupart des produits alimentaires, l'arôme est dû à un nombre important de constituants dont certains pris isolément ne présentent aucune particularité sensorielle mais contribuent toutefois à la spécificité aromatique du produit. Cette complexité rend assez difficile la préparation d'arôme à partir de molécules de synthèse ; de plus de nombreuses molécules impliquées dans l'arôme possèdent des carbones asymétriques et les propriétés olfactives sont souvent stéréospécifiques, ce qui rend plus difficile la synthèse chimique qui conduit généralement à la formation de racémiques. En général, les arômes alimentaires sont classés en quatre groupes :

- les *arômes naturels* sont des fractions ou extraits de produits naturels ou formés par des processus biologiques (enzymatique et/ou microbien) à partir de substrats naturels ;
- les *identiques au naturel* sont constitués de molécules de synthèse identiques à celles présentes dans le milieu naturel (par exemple le 4-hydroxy, 3-méthoxy-benzaldéhyde correspondant à la vanilline, ou le oct-1-èn-3-ol vecteur d'une note champignon) ;
- les *arômes de synthèse* sont constitués de molécules inexistantes dans le milieu naturel (par exemple le 4-hydroxy, 3-éthoxy-benzaldéhyde correspondant à l'éthylvanilline dont l'intensité olfactive est dix fois supérieure à celle de la vanilline) ;

– les *arômes de transformation* tels que les produits de dégradation des sucres en présence d'acides aminés (dégradation de Strecker) ou de dégradation de la lignine (fumée).

Les molécules responsables de l'arôme d'un aliment ont plusieurs origines :

– les matières premières mises en œuvre ;

– les processus biologiques, enzymatiques et microbiologiques se déroulant dans les matières premières au cours de leur conservation ou de leur transformation ;

– les traitements physico-chimiques mis en œuvre (cuisson, fumage, salage, etc.).

Les progrès réalisés dans la connaissance des arômes ont permis de caractériser les substrats aromatiques et d'élucider les principales voies de biosynthèse ; à partir de ces travaux, il a été possible d'identifier les leviers biologiques et physico-chimiques qui permettent d'amplifier l'intensité aromatique et de mieux utiliser les potentialités aromatiques des matières premières. Chez les végétaux, de nombreux substrats aromatiques sont glycosylés et en conséquence non volatils ; l'hydrolyse enzymatique ou chimique permet de libérer l'aglycone et d'accroître le potentiel aromatique du produit : c'est le cas par exemple de la libération de la vanilline à partir de la glucovanilline au cours de la fermentation des gousses. De nombreux procédés biotechnologiques mettant en œuvre des cellules végétales, des micro-organismes, des enzymes ont été alors développés pour amplifier l'arôme de vins, jus de fruits, etc., ou pour produire des arômes à partir de substrats issus de coproduits agricoles ou industriels.

Ces acquis scientifiques ont contribué au développement de l'industrie des ingrédients aromatiques qui met aujourd'hui sur le marché une multitude de bases aromatiques répondant aux exigences et contraintes des industries alimentaires et aux attentes des consommateurs.

4.2. Extraction/concentration des colorants et arômes

Certaines matières premières aux propriétés colorantes et/ou aromatisantes peuvent être mises en œuvre en l'état ; leur conservation peut être assurée soit à l'état congelé soit sous forme déshydratée : c'est le cas par exemple de certaines herbes aromatiques.

À l'échelle industrielle on s'oriente plutôt vers des concentrés, des essences ou des extraits pour des raisons de praticité et de régularité qualitative.

La solubilité dans l'eau ou les solvants organiques et la tension de vapeur des pigments et molécules aromatiques conditionnent principalement le type de procédés de concentration et/ou d'extraction mis en œuvre.

4.2.1. Extraction solide/liquide

L'extraction des pigments et des acides est souvent réalisée directement sur des matières premières (betterave) ou des coproduits (marc de raisin, distillerie vinicole, etc.) ; la technique consiste à mettre le produit au contact d'un solvant qui est

choisi en fonction de la nature de la matière première, des composés à extraire et des utilisations de l'extrait et du coproduit résiduel ; le solvant peut être de nature aqueuse ou organique (alcool, hexane, acétone, éther de pétrole, acétate d'éthyle, chlorure de méthylène, CO_2 supercritique). Dans le cas d'un solvant aqueux la vitesse de transfert par diffusion est déterminée par la loi de Fick ; elle dépend donc de la surface de l'interface liquide/solide, du coefficient de diffusion et du gradient de concentration des constituants à extraire à l'interface. Dans le cas d'un solvant organique (extraction d'arôme), la vitesse d'extraction dépend du coefficient de partage des constituants entre la phase aqueuse du produit et la phase organique.

L'extraction peut se faire en batch unique ou successif, ou de façon continue à contre-courant. Les extracteurs en batch sont constitués de cuves thermostatées, d'un panier contenant le produit à extraire, d'un système d'agitation et éventuellement d'un filtre en fond de cuve ou flottant qui permet de clarifier la phase liquide. Les diffuseurs en continu fonctionnent tous à contre-courant soit par immersion, soit par arrosage du produit à extraire ; le contre-courant permet d'obtenir un niveau d'extraction plus important dans la mesure où le produit sortant se trouve au contact du solvant pur. Les diffuseurs en continu sont de moins en moins utilisés pour l'extraction d'arôme et de colorants car ce sont des systèmes moins flexibles que les batchs, dans lesquels on peut mettre des produits plus divisés, ajouter éventuellement des enzymes et réguler les paramètres physico-chimiques (température, pH, etc.).

Dans le cas où le solvant est de l'eau, l'extrait est ensuite filtré si nécessaire, concentré par évaporation ou osmose inverse et éventuellement déshydraté par atomisation. Lorsque le solvant est de nature organique, l'extrait est distillé et le solvant condensé et recyclé. Le recyclage peut se faire simultanément à l'extraction comme cela est représenté sur la figure 230 ; dans le cas particulier du CO_2 supercritique, le solvant repasse à l'état gazeux par détente puis à l'état liquide par compression mécanique (figure 157) ; l'extraction solide/liquide peut être facilitée par traitement du mélange solide/liquide aux micro-ondes.

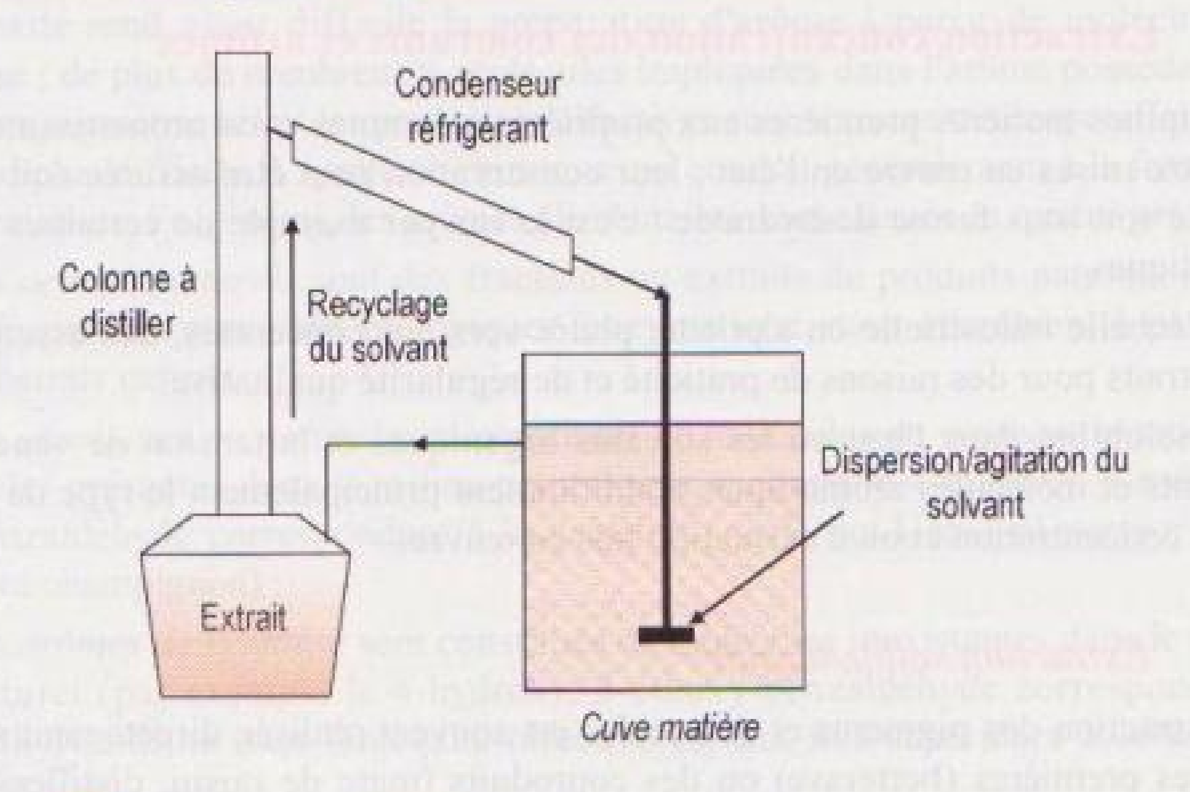


Figure 230 ■ Extracteur avec recyclage du solvant.

4.2.2. *Extraction liquide/liquide*

Cette technique est utilisée pour extraire d'un liquide des molécules volatiles d'intérêt aromatique ; le liquide à extraire étant en général de nature aqueuse le solvant à mettre en œuvre est de nature organique et non miscible dans l'eau afin de faciliter la séparation des deux solutions. La vitesse d'extraction dépend de la surface interphasique et des coefficients de partage entre les deux phases. L'extrait obtenu par solvant est appelé oléorésine.

L'extraction peut se faire en batch en créant une émulsion de la phase organique dans la phase continue aqueuse, suivie d'une séparation de phase qui permet la récupération de la phase organique ; elle peut également se faire en continu dans des colonnes garnies ou à plateaux. Le garnissage d'une colonne avec des anneaux de Rashig permet d'augmenter la surface entre les deux phases liquides : la phase lourde est introduite par le haut et la phase légère (en général la phase organique) par le bas (figure 231). La séparation de phase des deux liquides est parfois difficile en raison de la présence de molécules amphiphiles qui ont la particularité de stabiliser des émulsions.

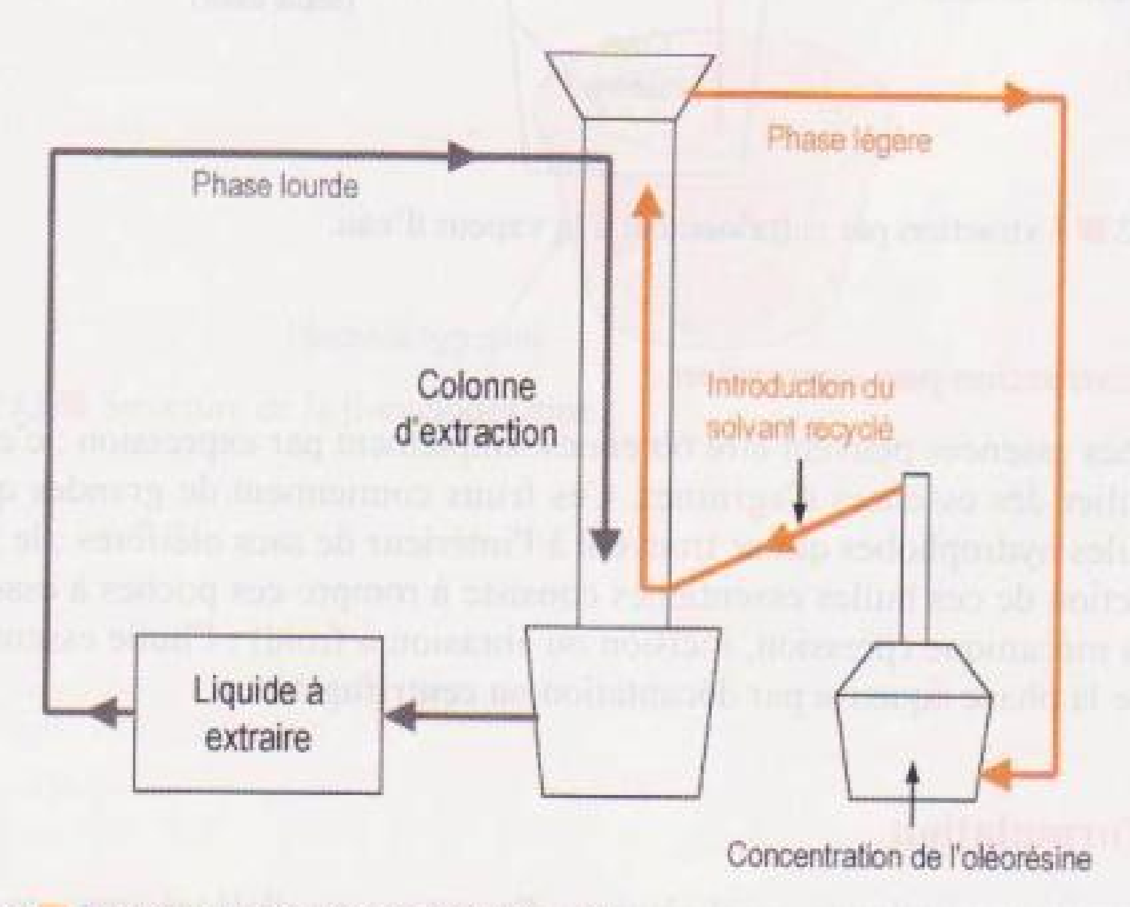


Figure 231 ■ Extracteur continu liquide/liquide.

4.2.3. *Extraction par distillation*

Les molécules aromatiques étant volatiles, leur extraction par distillation peut être envisagée. Le chauffage direct de la cuve matière entraîne en général une dégradation thermique de la matière première, ce qui altère la qualité de l'arôme ; pour limiter les effets thermiques, il est préférable d'introduire dans la cuve matière de la vapeur d'eau qui libère sa chaleur latente dans la masse en se condensant ; les buées de vapeur et les molécules volatiles entraînées sont condensées et récupérées dans un essencier (figure 232). L'extraction par distillation peut être réalisée sous vide afin de réduire la température dans la cuve matière. Lorsque la fraction vola-

tile aromatique est non miscible dans l'eau, on obtient deux phases : l'hydrodistillat et la fraction aromatique appelée essence ; celle-ci peut être plus lourde (essence d'oignon) ou plus légère (essence d'agrumes) que la phase aqueuse ; la phase aqueuse, dont le volume est beaucoup plus important que celui de l'essence, peut être recyclée dans la cuve matière. Lorsque la fraction aromatique est hydrosoluble, les arômes peuvent être extraits du distillat par solvant selon les procédés décrits précédemment.

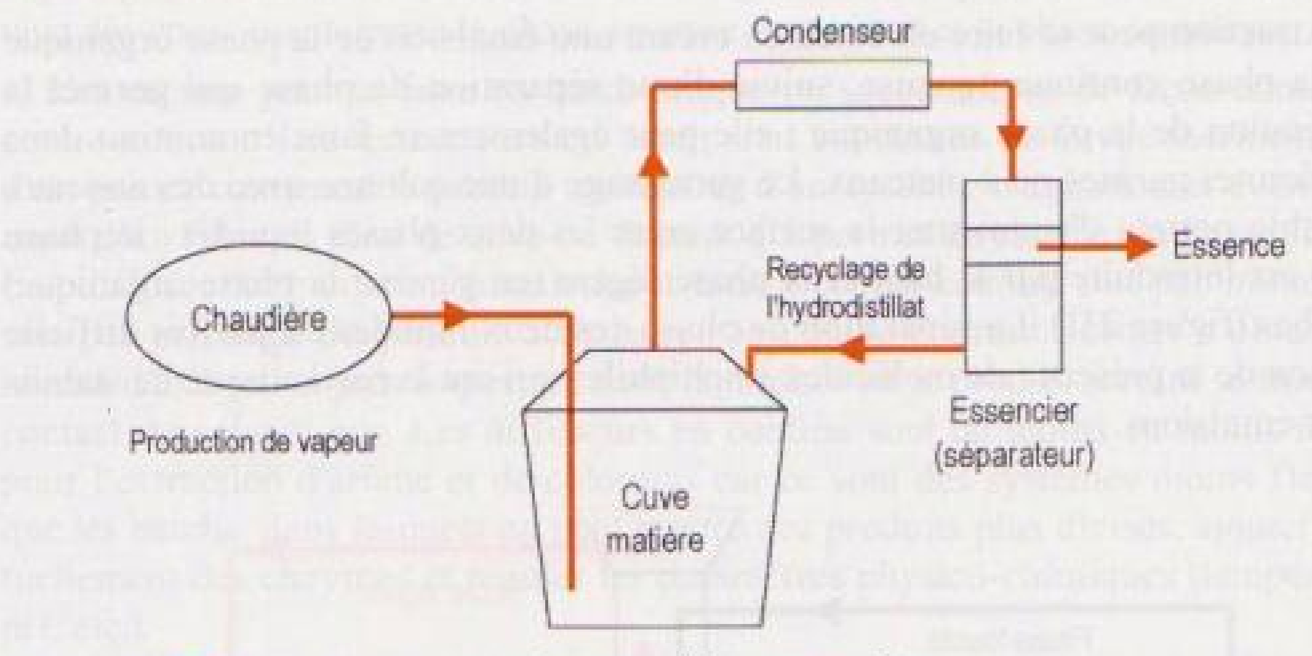


Figure 232 ■ Extraction par entraînement à la vapeur d'eau.

4.2.4. *Extraction par expression*

Certaines essences peuvent être obtenues simplement par expression ; c'est le cas en particulier des essences d'agrumes. Ces fruits contiennent de grandes quantités de molécules hydrophobes qui se trouvent à l'intérieur de sacs oléifères ; le principe de l'extraction de ces huiles essentielles consiste à rompre ces poches à essence par un moyen mécanique (pression, incision ou abrasion à froid) ; l'huile essentielle est séparée de la phase aqueuse par décantation ou centrifugation.

4.3. Formulation

Les extraits aromatiques, qu'il s'agisse d'essences ou d'oléorésines, ne peuvent être utilisés en l'état en raison de leur hydrophobie, de leur volatilité et des faibles concentrations mises en œuvre dans la formulation des aliments ; en outre la base aromatique doit être adaptée au produit à aromatiser et à la technologie de préparation de l'aliment (résistance à la chaleur, à l'acidité, à l'oxygène, etc.). L'arôme doit être dilué à la concentration désirée dans une phase organique (huile, matière grasse, alcool, etc.) ou fixé sur un support solide (sucre, maltodextrine, cyclodextrines, amidon, protéines, sels, etc.).

La fixation sur support solide peut se faire par pulvérisation d'une solution alcoolique d'arôme sur le solide suivie d'une élimination du solvant ou par atomisation d'une solution contenant l'arôme et le support (gomme arabique, maltodextrine, cyclodextrine).

Dans le procédé de pulvérisation, l'arôme est adsorbé à la surface du support, ce qui présente un double inconvénient : perte par évaporation et dégradation au contact de l'oxygène. En revanche, dans le procédé d'atomisation, la fraction aromatique est localisée au cœur du grain de poudre car lors du séchage, le transfert d'eau au cœur de la gouttelette et au travers de l'interface solide/air est plus rapide que le transfert des molécules aromatiques, ce qui permet une meilleure rétention et une moindre exposition à l'air. Dans le cas particulier des cyclodextrines, il y a une inclusion des substances hydrophobes dans le cœur de ces molécules cycliques contenant six, sept ou huit unités glucose provenant de l'hydrolyse d'amidon et pontés aux extrémités par une liaison entre les carbones 1 et 4 (figure 233) ; elles ont la forme d'une couronne dont l'extérieur présente un caractère hydrophile et l'intérieur un caractère hydrophobe, d'où leur capacité à piéger des molécules aromatiques. Cette inclusion présente le double avantage de stabiliser l'arôme au cours des traitements technologiques et du stockage et de retarder son relargage lors de la mise en bouche, ce qui accroît la durée de perception olfactive.

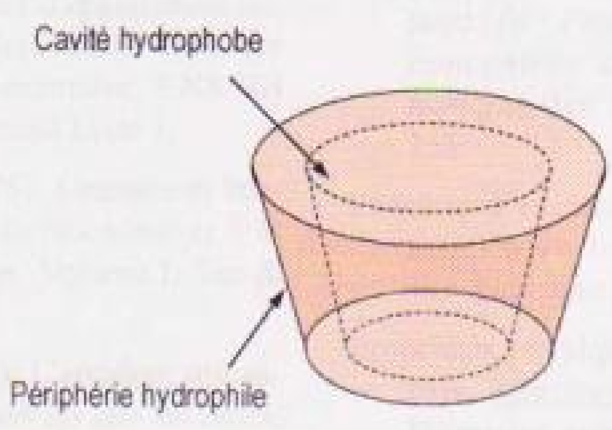


Figure 233 ■ Structure de la β-cyclodextrine.

Références bibliographiques
de la troisième partie

Britten M (2002). Ingrédients laitiers. *In* : Vignola CL, *Science et Technologie du lait – Transformation du lait*. Presses internationales polytechniques, Montréal, 471-526.

Berot S, Davin A (1985). Technologie d'extraction et de purification des matières protéiques végétales. In : *Protéines végétales*. Tec & Doc Lavoisier, Paris, 335-472.

Bimbenet JJ, Duquenoy A, Trystram G (2002). *Génie des procédés alimentaires : des bases aux applications*. Dunod Éd., Paris.

Cecchin M (2001). *Domaines d'application des sucroesters et sucroglycérides*. Mémoire DESS ingénierie documentaire, ENSSIB – université Claude Bernard Lyon 1.

Cheftel JC, Cheftel H (1976). Graisses et huiles. *In : Introduction à la biochimie et à la technologie des aliments*, Volume 1, Tec & Doc Lavoisier, Paris.

Colonna P, Rouau X (1986). L'amidon, utilisations industrielles. *Industries des céréales*, **41** : 7-11.

Fauquant J, Vieco E, Brulé G, Maubois JL (1985a). Clarification des lactosérums doux par agrégation thermocalcique de la matière grasse résiduelle. *Lait*, **65** : 1-20.

Fauquant J, Pierre A, Brulé G (1985b). Clarification du lactosérum acide de caséinerie. *Tech Lait*, **1003** : 37-39.

Gunstone FD (1998). Movements towards tailor-made fats. *Prog Lipid Res*, **37**(5) : 277-305.

Hamm W (1995). Trends in edible oil fractionation. *Trends Food Sci Technol*, **6** : 121-126.

Korhonen H, Pihlanto A (2006). Bioactive peptides : production and functionality *IDJ*, **16**(9) : 945-960.

La sucrerie de canne. http://www.lesucre.com/upload_fic/dossier_canne. pdf

Le sucre. Documentation du CEDUS, chapitres 3 et 4.

Linden G, Lorient D (1994). *Biochimie agro industrielle : valorisation alimentaire de la production agricole*. Masson, Paris.

Mahaut M, Jeantet R, Brulé, G, Schuck P (2000). *Les produits industriels laitiers*. Tec & Doc Lavoisier, Paris.

Poppe J, Vincent R (1982). La gélatine alimentaire. *In* : *Protéines animales – Extraits, concentrés et isolats en alimentation humaine*. Tec & Doc, Lavoisier, Paris, 228-255.

Procédé d'extraction du sucre de betterave. http://www.lesucre.com/upload_fic/dossier_betterave.pdf

Propriétés physiques et chimiques du saccharose. http://www.lesucre.com/upload_fic/Proprietes_saccharose.pdf

Totosaus A, Montejano JG, Salazar JA, Guerrero I (2002). A review of physical and chemical protein-gel induction. *Int J Food Sci Technol*, **37** : 589-601.

Vercauteren R, Rapaille A (1999). *Productions industrielles des glucides alimentaires, propriétés technologiques et utilisations alimentaires*. Dossier scientifiques de l'institut français pour la nutrition, **11** : 37.

Visser RA, van den Bos MJ, Ferguson WP. (1988) *Lactose and its chemical derivatives*. Bulletin IDF 233, 33-44.

Quatrième partie

Emballage et conditionnement

12

Emballage

L'emballage et le conditionnement sont les dernières opérations de la fabrication des produits alimentaires ; ils sont indissociables du produit, et doivent contribuer à préserver les qualités hygiéniques, sensorielles et nutritionnelles de l'aliment, répondre aux contraintes de la logistique et de la distribution et satisfaire les attentes des consommateurs en matière d'usage ; l'emballage est en outre un support d'information et de communication qui peut véhiculer des images, des symboles qui constituent la composante immatérielle de l'aliment mais dont l'impact sur la perception du produit et l'acte d'achat est parfois très important. Les progrès techniques réalisés au cours des vingt dernières années dans le domaine de l'emballage et du conditionnement ont été une source d'innovation en matière de praticité et ont permis d'allonger les fenêtres de commercialisation (augmentation des DLC/DLUO) en assurant une meilleure qualité au cours du stockage.

1. Définition et principes fondamentaux

La directive européenne 94/62/CE donne la définition officielle de l'emballage et en précise les champs d'application. Il s'agit de « tout produit constitué de matériaux de toute nature, destiné à contenir et à protéger des marchandises données, allant des matières premières aux produits finis, à permettre leur manutention et leur acheminement du producteur au consommateur ou à l'utilisateur, et à assurer leur présentation ». On peut définir trois niveaux d'emballage :

– *l'emballage de vente ou emballage primaire*, conçu de manière à constituer une unité au point de vente pour l'utilisateur final ou le consommateur ;

– *l'emballage groupé ou emballage secondaire* regroupe un certain nombre d'unités de vente, destinées à l'utilisateur final ou au consommateur ; il peut être enlevé du produit sans en modifier les caractéristiques ;

– *l'emballage de transport ou emballage tertiaire* facilite la manutention et le transport d'un certain nombre d'unités de vente ou d'emballages groupés en vue d'éviter leur manipulation physique et de limiter les dommages.

Les matériaux au contact des aliments doivent respecter les principes qui constituent le concept d'*alimentarité* (règlement 1935/2004 CE) :

- le *principe d'inertie* définit les limites de migration globale ou spécifique de constituants de l'emballage au-delà desquelles ils peuvent présenter un danger pour la santé humaine ou animale ou entraîner une modification inacceptable de la denrée ou une altération des propriétés organoleptiques du produit ;
- le *principe de composition* impose que les constituants de l'emballage soient inscrits dans les listes positives de substances qui ont subi une procédure d'autorisation d'emploi pour un nouveau constituant ou une extension d'emploi ;
- le *principe d'étiquetage* se traduit par l'apposition d'un marquage mentionnant le caractère alimentaire du matériau.

2. *Fonctions de l'emballage*

Elles doivent satisfaire aux exigences de tous les acteurs de la chaîne de distribution du produit depuis l'usine jusqu'au consommateur, ce qui n'est pas sans créer quelques antagonismes comme par exemple, un emballage à ouverture facile pour l'usager mais suffisamment résistant pour supporter les contraintes mécaniques lors du transport et de la mise en rayon. La conception d'un emballage n'est donc pas aisée et doit intégrer l'ensemble des fonctions qu'il doit remplir.

2.1. Fonctions techniques de l'emballage

2.1.1. *Contenant*

La fonction première d'un emballage est qu'il doit être apte à contenir le produit pour lequel il a été choisi. Il est donc important de raisonner son choix en terme de couple produit-emballage. En effet, conditionner un produit suppose de bien connaître sa composition et ses caractéristiques physiques de façon à identifier les contraintes de sa conservation. Il est également nécessaire de prendre en compte la quantité de produit à conditionner qui sera garantie au consommateur, ce qui amène à considérer cette fois le triplé produit-emballage-conditions d'utilisation. Cet élément est en constante évolution à l'image de celle des modes de vie des consommateurs, avec ces dernières années une tendance au fractionnement en unités de consommation individuelles, journalières, etc.

2.1.2. *Logistique*

La fonction logistique de l'emballage doit répondre aux contraintes du transport et du stockage et faciliter la manutention du produit. À ce titre, des efforts peuvent encore être faits pour optimiser cette fonction ; en effet, l'idéal serait d'un point de vue ergonomique d'avoir une unité de base de 40 cm de large (ce qui correspond à la largeur entre épaules) puis de tout conditionner en multiple de cette unité (cartons, palettes, camions de largeur correspondant à un multiple de la largeur des palettes).

2.1.3. Protection

La principale fonction de l'emballage reste néanmoins celle de conservation et de protection du produit alimentaire associée à une obligation d'innocuité toxicologique et d'inertie chimique de ses matériaux constitutifs. L'emballage est avant tout une barrière entre le produit et le milieu extérieur, assurant ainsi la *protection passive* du produit. Celle-ci peut être d'ordre mécanique, contre les chocs et les contraintes que peut subir le couple emballage-produit. Il faut également protéger le produit des transferts de matière qui peuvent se produire en phase liquide (imperméabilité ou porosité de l'emballage aux liquides) ou en phase gazeuse (étanchéité ou porosité aux gaz et autres substances volatiles). Cette notion de perméabilité des emballages, à considérer en fonction du produit à conditionner, sera reprise dans le paragraphe 3. Au regard de ces transferts, l'emballage joue un double rôle puisqu'il faut qu'il fasse barrière :

- *du milieu extérieur vers le produit* : il constitue une barrière à l'eau pour éviter les moisissures et les altérations de texture, à l'oxygène pour éviter le développement de bactéries aérobies et les phénomènes d'oxydation, aux substances volatiles éventuellement présentes dans l'environnement (hydrocarbures, fumées, parfums, etc.) susceptibles d'altérer les propriétés organoleptiques de l'aliment ;
- *du produit vers le milieu extérieur* : il constitue une barrière à l'eau pour éviter la déshydratation du produit, aux gaz ou mélanges de gaz (CO_2, N_2, etc.) éventuellement introduits dans l'emballage pour assurer la conservation du produit, aux composés volatils pour éviter des pertes d'arômes.

L'emballage doit également assurer une protection contre les transferts d'énergie par rayonnement (lumière) ou conduction/convection (chaleur) qui peuvent se produire du milieu extérieur vers le produit et déclencher ou accélérer des processus chimiques ou microbiologiques d'altération. De nombreux produits sont sensibles à la lumière (visible mais aussi proche infrarouge ou ultraviolet), qui initie des réactions photochimiques notamment responsables d'altération de la couleur, de pertes de vitamines et de photolyse d'acides aminés. Pour ces produits, le rôle photoprotecteur de l'emballage consiste à filtrer les longueurs d'onde posant problème, voire à stopper toute entrée de lumière (emballage opaque). En ce qui concerne les transferts thermiques, le caractère isolant d'un emballage est utile chaque fois que le couple produit-emballage est soumis à des gradients de température.

Enfin, l'emballage est également une barrière entre les micro-organismes du milieu extérieur et le produit. Il remplit ainsi un rôle essentiel qui est de maintenir la qualité hygiénique et microbienne des aliments, en empêchant d'une part une post-contamination, et d'autre part en empêchant ou limitant les transferts de matière (eau, gaz) susceptibles de favoriser le développement de germes éventuellement présents. Par ailleurs, il est important de rappeler que dans le cas des produits stérilisés, l'emballage doit pouvoir supporter les couples temps/température appliqués ou être adapté au conditionnement aseptique.

Une nouvelle génération d'emballages a été développée au cours des 30 dernières années. Ces emballages, dits actifs, ont des propriétés qui vont au-delà de la protection et du caractère inerte ; ils interagissent avec le produit et dans certains

cas répondent à des changements du milieu environnant ou du produit lui même (Wagner, 1989 cité par Gontard, 2000). Ces emballages exploitent donc des interactions possibles entre l'emballage et le produit alimentaire alors que jusqu'à présent celles-ci restaient fortuites et réduites au minimum.

En termes de maîtrise de la qualité, les emballages actifs peuvent être classés en deux grandes catégories : les interactifs qui agissent sur l'aliment ou son environnement pour préserver sa qualité tout au long de la chaîne de distribution et les indicateurs qui réagissent aux conditions de conservation ou aux caractéristiques de l'aliment pour en informer le consommateur en temps réel. Seuls les interactifs peuvent être considérés comme ayant une réelle fonction de protection de l'aliment. L'action de ces emballages concerne l'ensemble des mécanismes d'altération des aliments : oxydation des lipides, brunissement, dégradation des vitamines, pigments et arômes, développement des micro-organismes, activité respiratoire des végétaux frais, etc. Ils agissent soit par un contact direct avec l'aliment (films ionomériques sur lesquels sont greffés des agents antimicrobiens), soit en assurant une composition gazeuse optimale de l'atmosphère interne de l'emballage par adsorption (d'oxygène, d'éthylène, de vapeur d'eau, de composés aromatiques), relargage (de dioxyde de carbone, d'éthanol, de sulfites, d'agents antimicrobiens — sorbate, lysozyme — ou d'antioxydants — vitamine E, butyl hydroxytoluène) ou encore transfert sélectif de gaz entre l'atmosphère interne et environnante. Ce dernier mode d'action constitue la limite entre emballages conventionnels et emballages actifs.

La fonction de protection des emballages est donc triple puisqu'elle permet de protéger le produit du milieu extérieur mais également de lui-même (dans le cas de la respiration des végétaux par exemple) et de protéger le milieu extérieur du produit (dans le cas de libération d'arômes par exemple).

En ce qui concerne les emballages actifs indicateurs, les plus connus et les plus utilisés sont les indicateurs temps/température dont la couleur varie avec les conditions de stockage ou de traitement du produit contenu. Certains de ces indicateurs prennent en compte l'histoire cumulée du produit alors que d'autres n'indiquent que le dépassement ponctuel d'une température critique (rupture de la chaîne du froid). Il existe également des indicateurs de teneur en oxygène ou en gaz carbonique de l'atmosphère interne qui permettent de garantir au consommateur l'intégrité de l'emballage. Certains indicateurs vont encore plus loin en détectant certains composés volatiles impliqués dans l'état de fraîcheur du produit, comme les amines volatiles pour le poisson. D'autres enfin permettent de contrôler le déroulement du procédé de fabrication directement dans l'emballage (suivi du pH lors d'un procédé fermentaire par exemple).

2.1.4. Service

Cette fonction est aujourd'hui l'un des enjeux de l'innovation du secteur. Elle doit être présente de l'étape de conditionnement du produit (mécanisation de la ligne, stockage et expédition simplifiée, pertes limitées, etc.) au domicile du consommateur (garantie des quantités, unités de consommation, facilité de manipulation et de stockage, facilité d'ouverture et sécurité d'utilisation, etc.) en passant par le

distributeur (contrôle des stocks, optimisation des surfaces de vente et de la mise en rayon, traçabilité, optimisation du temps de passage en caisse, etc.). Elle apporte à l'utilisateur des informations sur le produit lui-même ou sur ses conditions de conservation. Afin de satisfaire les exigences en matière de traçabilité et d'information, le code-barres laissera peut-être bientôt la place à l'identification radiofréquence (RFID). L'emballage contiendrait alors une puce électronique comprenant les informations légales et non modifiables et des informations modifiables par le distributeur (prix, fonction antivol, etc.). Ce système pourrait également permettre d'accélérer les passages en caisse.

Des emballages dits *préparateurs* sont développés pour conditionner l'aliment avant consommation. Ils peuvent modifier les caractéristiques de l'aliment, essentiellement sa température, pour faciliter sa consommation (emballages auto-chauffants ou auto-refroidissants). Il faut également noter le développement d'emballages hydrosolubles et comestibles pour des portions prédosées de soupes ou de sauces au Japon, par exemple.

2.2. Fonctions communication de l'emballage

2.2.1. *Marketing*

L'emballage, parce qu'il est indissociable du produit qu'il contient, contribue largement à la décision d'achat du consommateur. Il doit attirer l'attention, éveiller l'intérêt et susciter le désir d'achat. Cette fonction purement marketing peut être déclinée en cinq sous-fonctions :

- *l'alerte* correspond à l'impact de l'emballage sur le consommateur. Elle est donnée par un signal fort souvent lié à la marque. Plusieurs éléments peuvent être utilisés comme le graphisme, la forme, la couleur ou le matériau, l'essentiel étant de repérer facilement le produit dans le linéaire ;
- *l'attribution* permet au client de replacer le produit dans son univers de référence. En effet, des codes existent en terme de couleur, de graphismes et de matériaux : par exemple, les emballages de tablettes de chocolat sont généralement marrons ou noirs. Les industriels ont le choix d'être fidèles ou à l'inverse en rupture avec l'univers de référence de leur produit ;
- le *positionnement* spécifie une place particulière au sein du domaine d'attribution (la gamme, induction de perception de qualité, de prix, etc.) ;
- la *séduction* est la fonction la plus subjective de l'emballage ; elle est liée à l'esthétique, la forme, la couleur et la symbolique des matériaux de l'emballage qui doivent déclencher l'acte d'achat. Le ré-achat du produit suppose une forte adéquation contenant-contenu ;
- la *fidélisation* correspond à l'objectif de créer un lien entre l'acheteur et le produit. L'emballage doit mettre en avant les spécificités du contenu et éviter pour le même besoin l'achat d'un produit concurrent.

2.2.2. *Information*

L'emballage représente le meilleur support pour les informations concernant le produit. On distingue les informations obligatoires, définies par la réglementation, et les informations utiles.

Les informations obligatoires sont définies par le décret du 7 décembre 1984 qui impose une description de la denrée (dénomination légale de vente, liste des ingrédients, quantité nette, date limite de conservation ou date limite d'utilisation optimale, identification d'un responsable de la commercialisation, du lot de fabrication et autres mentions complémentaires spécifiques à certaines denrées comme par exemple, le degré alcoolique sur les boissons alcoolisées) et par l'ordonnance du 31 décembre 1986 relative à la liberté des prix et de la concurrence qui impose l'indication du prix. Le décret du 7 décembre 1984 précise également que l'étiquetage et les modalités selon lesquelles il est réalisé ne doivent pas être de nature à créer une confusion dans l'esprit du consommateur.

Les informations utiles sont à la discrétion du fabricant de l'aliment. Il peut s'agir du mode d'emploi, de suggestions d'utilisation, de rappels d'autres produits de la gamme, de signes de qualités (appellations d'origine contrôlée (AOC), d'origine protégée (AOP), indications géographiques protégées (IGP), labels agricoles, certifications de conformité, étiquetage agriculture biologique, etc.), d'allégations sur les bénéfices pouvant être tirés de la consommation du produit, des symboles des matériaux constituant l'emballage ou encore du point vert certifiant que l'entreprise fabricant le produit s'acquitte de la taxe environnementale. Un certain nombre de ces informations sont soumises à la réglementation.

2.2.3. *Communication*

L'emballage est à la fois sujet et moyen de communication. Ainsi, l'industriel communique parfois sur son produit et parvient à le personnaliser via l'emballage, notamment lorsque celui-ci est peu différencié (publicités pour les sachets cuisson rapide du riz, pour les barquettes micro-ondables de différents plats préparés, etc.). Mais l'emballage est également un excellent média de communication car il est vu et lu par des millions de consommateurs ; à ce titre, il est possible de cibler les consommateurs auxquels le message s'adresse en fonction du produit qu'il contient.

2.3. Fonction environnementale de l'emballage

En dehors des fonctions déjà citées, il faut dorénavant intégrer la compatibilité de l'emballage avec l'environnement. La démarche d'écoconception, qui vise à diminuer l'impact environnemental des emballages, doit être prise en compte dès leur conception. Elle a été formalisée par la directive européenne 94/62/CE, qui mentionne que tout emballage mis sur le marché depuis le 1er janvier 2000 doit répondre aux exigences essentielles que sont :

– la *réduction à la source* par réduction de poids, de volume et du nombre d'emballages en modifiant les caractéristiques du produit, le procédé de condition-

nement (compactage, suppression des vides techniques, etc.) ou la conception de l'emballage (écorecharges, simplification de l'emballage, optimisation de ses dimensions, nature et mise en œuvre des matériaux utilisés) ;
- la *réduction du stockage en décharge* par réutilisation des emballages (consigne, etc.), recyclage, compostage et/ou valorisation énergétique (incinération).

Cette directive donne également des objectifs chiffrés pour la valorisation des différents types d'emballages (bois, plastiques, métaux, verre et carton), notamment en matière de recyclage.

D'après le principe du « pollueur-payeur », les industriels sont obligés par la loi de s'assurer de l'évacuation des emballages qu'ils génèrent. Comme il est matériellement impossible à un fabricant de récupérer chez les particuliers les emballages vides, il existe des organismes tels que Éco-emballages, l'Adelphe (pour les bouteilles en verre) ou encore Cyclamed (pour les produits pharmaceutiques), chargés de sous-traiter ces obligations. En principe, l'adhésion des industriels à ces organismes est facultative mais dans la pratique, ils peuvent difficilement faire autrement. Ils font alors figurer sur les emballages le point vert (figure 234).



Figure 234 ■ Logo point vert.

3. *Les propriétés de l'emballage*

Les caractéristiques du ou des matériaux constitutifs de l'emballage conditionnent ses fonctions, et doivent donc permettre de ralentir l'évolution physico-chimique et microbienne du produit alimentaire ; celui-ci présente au moment de son conditionnement un certain nombre de caractéristiques mesurables (a_w, indice de peroxyde, couleur, composition aromatique, texture, etc.) pour lesquelles il est possible de déterminer une valeur limite au-delà de laquelle il sera considéré comme non conforme. Par ailleurs, il peut constituer un excellent milieu nutritif pour les micro-organismes.

Les propriétés des emballages, au regard de leurs différentes fonctions, sont résumées sur la figure 235. Il est essentiel d'y ajouter l'approche cinétique, tant au niveau du contact produit-matériau, déterminé par les phénomènes de migration, que du contact atmosphère externe-matériau-atmosphère interne, qui dépend de la perméabilité de l'emballage.

3.1. Perméabilité

La perméabilité est une caractéristique déterminante de l'emballage, qui conditionne le transfert de matière au travers du matériau le constituant. Ces transferts, bidirectionnels (de l'atmosphère externe vers l'atmosphère interne et réciproque-

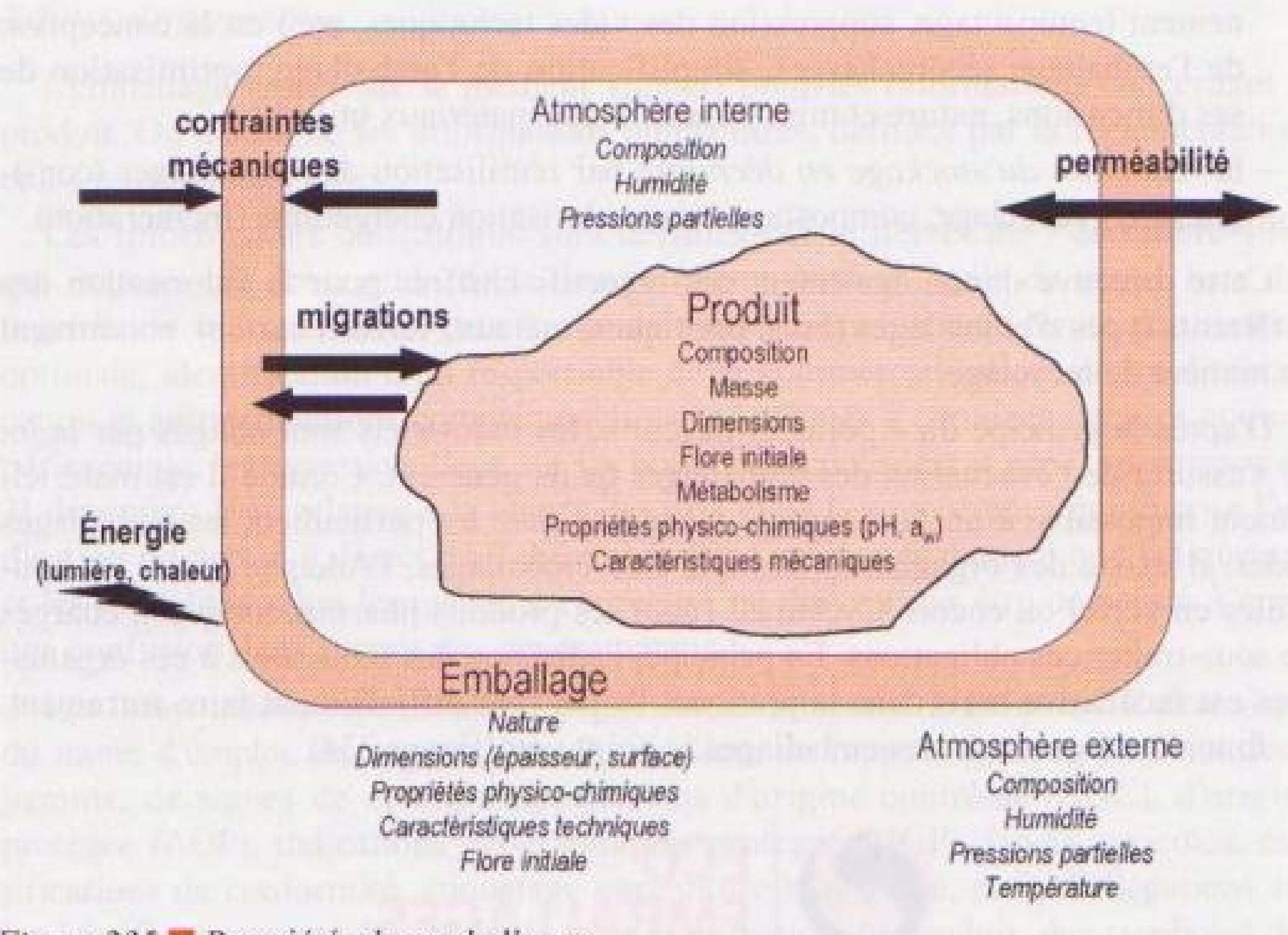


Figure 235 ■ Propriétés des emballages.

ment), peuvent se produire en phase liquide, ou plus généralement en phase gazeuse (gaz, vapeurs et autres substances volatiles).

3.1.1. Principes physiques

Les transferts de vapeur d'eau ou de gaz au travers d'un matériau sont décrits par la théorie de la perméation, qui implique un transfert par diffusion moléculaire imposé par une différence de concentration du diffusant de part et d'autre du matériau. La perméation est souvent décrite comme la succession de trois étapes : le pénétrant s'adsorbe sur le matériau, diffuse à travers le matériau sous l'action du gradient de concentration et se désorbe par évaporation. À l'état stationnaire, pour une température et un gradient de pression partielle constants et un matériau inerte et isotrope, les transferts diffusifs unidirectionnels de matière sont décrits par la première loi de Fick :

$$\phi_m = -D_m \cdot \frac{dC}{dx} \qquad [102]$$

où ϕ_m est la densité de flux de pénétrant, D_m la diffusivité de la matière (considérée constante pour l'ensemble du matériau) et $\frac{dC}{dx}$ le gradient de concentration. Les phénomènes de sorption (adsorption/désorption du pénétrant de la surface du matériau) dépendent de la solubilité du pénétrant dans le film. À température constante et à l'équilibre, la loi de Henry permet d'exprimer la concentration du pénétrant (C) :

$$C = S \cdot P \qquad [103]$$

Avec S coefficient de solubilité et P pression partielle. En combinant les équations [102] et [103], on obtient :

$$\phi_m = D_m \cdot \frac{dC}{dx} \qquad [104]$$

où ΔP est la différence de pression partielle du pénétrant de part et d'autre de l'emballage. Le produit du coefficient de diffusion (D_m) avec le coefficient de solubilité (S) est le coefficient de perméabilité ou perméabilité du matériau (P_e), que l'on peut donc relier au flux de pénétrant à l'état stationnaire :

$$P_e = \phi_m \cdot \frac{\Delta x}{\Delta P} \qquad [105]$$

Le terme coefficient de perméabilité est utilisé uniquement lorsque la perméabilité est constante quel que soit le gradient de pression, donc où D_m et S sont indépendants de la concentration en pénétrant. En pratique, il existe de nombreux cas où le pénétrant interagit avec le matériau, ce qui conduit à la formation de gradients de concentration à l'intérieur de celui-ci. Les coefficients de solubilité et de diffusion augmentent alors avec la différence de pression partielle en raison de l'affinité du matériau pour le perméant. Dans ce cas, la perméabilité peut être calculée dans une première approche à l'aide de l'équation suivante :

$$P_e = \frac{m \cdot e}{A \cdot t \cdot \Delta P} \qquad [106]$$

où m est la quantité de perméant (en kg ou mol), e est l'épaisseur du matériau (m), A est la surface du matériau (m^2), t est le temps (s) et ΔP est la différence pression partielle (Pa). Les mesures de perméabilité aux gaz et à la vapeur d'eau sont effectuées dans des conditions de température, d'humidité relative et d'épaisseur du matériau variables selon les auteurs, ce qui rend difficile la comparaison des différents matériaux.

3.1.2. Paramètres influents sur la perméabilité

Les phénomènes de diffusion et de solubilité qui définissent la perméabilité dépendent des caractéristiques physiques du matériau, du pénétrant et des conditions du milieu.

3.1.2.1. Propriétés du matériau

Pour simplifier, il est possible d'assimiler la structure d'un matériau à celle d'un tamis. Si les mailles sont petites et s'il est difficile de modifier leurs dimensions, l'énergie nécessaire au transfert de la matière diffusante est élevée, donc la perméabilité faible. Aucun matériau, hormis la boîte métallique soudée ou le bocal en verre, n'est rigoureusement étanche aux gaz. Un choix judicieux doit donc être fait entre les types de matériaux ou leurs combinaisons afin d'optimiser les perméabilités au regard des différents diffusants, en fonction du type de produit, du mode de conservation, des conditions de stockage, des risques de pollution par l'environnement et de la durée de conservation.

3.1.2.2. Propriétés du perméant

Les dimensions, configuration, polarité, faculté de condensation de la molécule diffusante influent sur la perméabilité. La taille des molécules pénétrantes influence principalement les coefficients de solubilité et de diffusion. Pour un matériau donné, la diffusion décroît lorsque le diamètre de la molécule diffusante augmente. En revanche, la solubilité dans un matériau dépendrait des formes des molécules perméantes et cette dépendance suivrait une relation linéaire en fonction du volume molaire. De même, des interactions peuvent se créer entre l'emballage et le pénétrant en fonction de leurs polarités respectives, modifiant ainsi fortement la perméabilité au pénétrant ou à d'autres molécules.

Le cas de l'eau est particulier puisque les propriétés barrières à l'eau se définissent selon son état : imperméabilité à l'eau à l'état liquide, évaporation au sein du matériau et diffusion de vapeur d'eau au travers des parois du contenant.

3.1.2.3. Conditions environnementales

Le coefficient de diffusion, la solubilité et par conséquent la perméabilité d'un matériau varient avec la température selon la loi d'Arrhénius :

$$D_m = D_0 \cdot e^{-\frac{E_d}{R \cdot T}} \qquad [107]$$

$$S = S_0 \cdot e^{-\frac{E_s}{R \cdot T}} \qquad [108]$$

où D_0 et S_0 sont des constantes, E_d et E_s des énergies d'activation, R la constante des gaz parfaits et T la température absolue. En supposant la loi de Henry applicable, on obtient de même :

$$P_e = P_0 \cdot e^{-\frac{E_p}{R \cdot T}} \qquad [109]$$

La diffusion croît toujours avec la température ; pour la solubilité en revanche, l'énergie d'activation dépend de la nature de la matière diffusante. Dans la plupart des emballages alimentaires, la solubilité dépend faiblement de la température et l'énergie d'activation reste positive. La perméabilité croît donc avec la température. Cependant, lorsque la matière diffusante réagit avec le matériau, comme c'est le cas par exemple des vapeurs organiques pour lesquelles les coefficients de diffusion et de solubilité sont fonction de leur concentration dans le matériau, la loi précédente n'est plus applicable. La perméabilité croit alors avec la température et la concentration en matière diffusante dans le polymère. À partir d'un certain seuil de température, une inversion de la pente peut être observée. Enfin, certains matériaux subissent, à une température précise, un changement de structure qui peut affecter le coefficient de perméabilité.

Pour les gaz simples (oxygène, gaz carbonique, azote), la vitesse de transfert au travers du matériau est directement proportionnelle au gradient de pression partielle : ainsi, dans le cas d'un produit alimentaire conditionné sous azote afin d'éviter son oxydation, le transfert d'oxygène à travers l'emballage s'observe dès que la

pression partielle externe de ce gaz est supérieure à celle régnant à l'intérieur de l'emballage, en fonction des caractéristiques barrières à l'oxygène du matériau et de l'influence de la pression ou du gaz lui-même sur celui-ci. Dans le cas de la vapeur d'eau, deux cas de figure sont possibles : la vapeur ne se dissout pas dans le matériau et la vitesse de transfert est proportionnelle à la différence de pression partielle existant de part et d'autre du matériau à l'équilibre, ou bien il y a dissolution de la vapeur d'eau dans le matériau et la vitesse de transfert dépend alors des pressions partielles et de la pression absolue.

3.1.3. *Notion de perméabilité sélective*

Les matériaux d'emballages, en particulier les polymères, peuvent être plus perméables à certaines molécules qu'à d'autres. Cette caractéristique, appelée sélectivité, est propre aux matériaux denses dans lesquels les mécanismes de perméabilité procèdent par solubilisation puis diffusion du pénétrant. Pour une très grande majorité de polymères, on constate en effet que la perméabilité au dioxyde de carbone est de l'ordre de trois fois supérieure à celle de l'oxygène, elle-même 6 à 8 fois supérieure à celle de l'azote. Les propriétés barrières aux gaz doivent donc être évaluées au cas par cas, en fonction du gaz considéré, de la nature et de l'épaisseur du matériau envisagé, de la durée de conservation souhaitée et de la pression de gaz à maintenir dans le contenant.

Il n'y a donc pas de réponse globale au problème de la perméabilité de l'emballage, mais uniquement des réponses adaptées à chaque cas particulier, le plus important étant de bien connaître le produit, son évolution dans le temps et sa sensibilité aux réactions de dégradation.

3.2. Migrations

Elles correspondent au transfert de substances provenant du matériau d'emballage vers le produit emballé par des effets de nature physico-chimique, à l'exclusion des éléments qui pourraient se dissocier de l'emballage sous l'effet de contraintes mécaniques. On distingue les migrations spécifiques, quand on mesure le transfert de composants bien identifiés, de la migration globale, quand on mesure la totalité des composés du matériau qui se sont immiscés dans le produit emballé par contact.

3.2.1. *Migrants potentiels*

Il importe de connaître les migrants potentiels, ou du moins ceux qui font l'objet de limites ou de restriction de migration. Ces migrants peuvent avoir plusieurs origines : ils peuvent être présents dans la matière première servant à confectionner l'emballage (métaux, tannins du bois, sable dans le verre, résidus de synthèse des monomères, substances incorporées au cours du recyclage, etc.), avoir été incorporés volontairement ou non lors de la mise en œuvre de cette matière première (monomères, additifs, catalyseurs, produits de dégradation de ces additifs et polymères, etc.) ou encore apparaître au cours du stockage (réactivité des additifs entre

eux, à la lumière, l'oxygène ; dégradation du matériau ; réactivité entre constituants de l'aliment et ceux du contenant) ou de la mise en température du produit emballé (micro-ondes).

Ces migrants peuvent être classés en fonction de leur masse molaire qui conditionne leur tendance à la migration et qu'il est facile d'analyser par des techniques chromatographiques et spectrophotométriques (tableau 42).

Tableau 42 ■ Domaines d'application des méthodes analytiques usuelles pour l'analyse des migrants potentiels.

Masse molaire (Da)	Caractéristiques	Technique d'analyse
de 40 à 150-200	Monomères, volatils	Chromatographie en phase gazeuse (CPG) et techniques d'espace de tête
de 150 à 600	Volatils	
de 200 à 1 000		RMN, chromatographie en phase liquide
de 40 à 1 000	Présence d'un chromophore	Spectrophotométrie en UV direct

3.2.2. *Types de migration*

Les interactions possibles entre les aliments et les emballages ont fait l'objet d'études où le matériau est considéré comme donneur de ses composants. Cependant, des composés de l'aliment peuvent également migrer dans le matériau d'emballage : ce phénomène inverse se présente en particulier pour la plupart des plastiques. On peut identifier trois classes de matériaux.

► CLASSE 1 : MIGRATION NULLE OU NÉGLIGEABLE

Il existe un ensemble de combinaisons d'aliments et de matériaux pour lesquelles pratiquement aucune migration ne sera observée. C'est notamment le cas en conditions sèches, où il n'y aura quasiment pas d'échange entre l'aliment et la plupart des matériaux d'emballages.

► CLASSE 2 : MIGRATION INDÉPENDANTE DU PRODUIT EMBALLÉ

Dans cette classe figurent principalement des matières plastiques : les polymères contiennent une certaine quantité de monomères sous forme d'inclusions provenant pour l'essentiel du milieu de réaction. Ces monomères et autres produits peuvent également se former à partir de polymères par dégradation thermique lors de la fabrication des emballages ou photodégradation par rayonnement (ultraviolet ou ionisant). Il s'agit de molécules de petite taille (éthylène, propylène, styrène, chlorure de vinyle) qui peuvent diffuser à travers le polymère sous l'influence du gradient de concentration, y compris en l'absence de sollicitations extérieures (vibrations).

La contamination des produits alimentaires par diffusion de monomères gazeux est moins critique dans la mesure où ceux-ci sont volatils, et que cette propriété permet généralement de se conformer aux concentrations résiduelles limites fixées par la réglementation à l'ouverture de l'emballage.

La quantité de produit qui migre par diffusion suit la loi de Fick ; elle est proportionnelle au temps, à la surface de l'emballage et à la concentration initiale du migrant dans le matériau d'emballage. L'épaisseur de l'emballage n'intervient pratiquement plus lorsque celle-ci dépasse une valeur de 15 µm. Au bout d'un certain temps (de l'ordre de 5 jours à 40 °C), l'équilibre de concentration du migrant dans le matériau et le milieu environnant est atteint : la migration s'arrête.

▶ CLASSE 3 : MIGRATION DÉPENDANTE DU PRODUIT EN INTERACTION

Les phénomènes qui se produisent dans ce cas sont contrôlés par les propriétés des deux phases qui sont en contact. Contrairement aux cas décrits précédemment, ce sont les produits liquides qui contrôlent les différentes formes de migration. Trois possibilités peuvent alors se présenter dans le cas où la paroi de l'emballage est en contact avec le contenu.

• *Réactions chimiques ou électrochimiques* entre la paroi de l'emballage et le contenu (cas d'emballages métalliques) : Les métaux (fer-blanc, aluminium) peuvent réagir avec les acides présents dans les aliments (fruits et légumes notamment) en formant de l'hydrogène gazeux et des ions métalliques induisant leur corrosion. La réaction générale peut être formalisée selon :

$$M + 2H^+ \rightarrow H_2 + M^{2+} \quad [110]$$

L'étain, qui constitue la couche extérieure des boîtes de conserve, se couvre en surface d'une fine couche d'oxydes qui diminue sa réactivité vis-à-vis des acides. Néanmoins, cette couche ne résiste pas aux milieux fortement acides ; c'est pourquoi les produits à pH inférieur à 4-4,5 sont de préférence emballés dans des boîtes recouvertes d'un vernis protecteur, souvent à base d'époxyde.

Divers phénomènes électrochimiques peuvent se produire dans lesquels le support métallique se comporte soit comme une anode, soit comme une cathode ; les espèces ioniques formées peuvent contribuer à la dégradation de la qualité sensorielle (couleur et flaveur). Ce phénomène se présente dans le cas où les deux métaux constitutifs de la boîte métallique (le fer et l'étain) entrent en contact avec le liquide contenu dans la boîte au niveau des pores du vernis. La réglementation proscrit la commercialisation de boîtes endommagées, car la mise en contact des différents éléments constitutifs de la paroi avec le produit peut être favorisée. D'autres réactions sont possibles entre la paroi métallique et le contenu comme, par exemple, la réaction entre l'étain et le soufre présent dans les purées de tomates, de petits pois, etc. Il se forme alors du sulfure d'étain, produit insoluble mais fortement coloré qui parsème la paroi métallique de tâches noires ou brunâtres. Bien que cette coloration n'engendre pas de contamination du produit, elle conduit à une dépréciation du contenu aux yeux du consommateur.

Pour conclure sur ce point, on peut noter que la réactivité des métaux dépend en grande partie de la pureté et de la qualité du dépôt d'étain et des traitements de surface, la présence d'impuretés entraînant une réactivité plus grande.

• *Échange d'ions entre la paroi de l'emballage et l'aliment* (emballages en verre ou céramique). L'état vitreux est un liquide sous-refroidi d'oxydes de silice, composante principale des verres. D'autres éléments tels le sodium, le calcium, le magné-

sium, le cadmium et le plomb (métaux communs dans la fabrication de glaçures et verres de cristal) sont présents pour des raisons pratiques et économiques. Différentes formes de silicates sont imbriquées dans la structure de base formée par les oxydes de silice. Ainsi, la surface des verres peut se comporter comme un échangeur d'ions lorsqu'elle est mise en contact avec des solutions contenant des espèces ioniques : des échanges de protons et de cations (sodium, cadmium, etc.) peuvent se produire en présence d'acide. Pour la plupart des verres et céramiques utilisés, ces échanges sont limités étant donné le faible niveau de concentration. À titre d'exemple, une bouteille d'un litre (surface de contact produit/emballage 5 dm^2) cède en 6 mois 25 mg de sodium. Néanmoins, la loi fixe des limites pour les migrations de plomb et de cadmium, compte tenu de leur toxicité.

• *Absorption des liquides* à la paroi de l'emballage (cas d'emballages plastiques ou papiers). Les matières plastiques peuvent contenir deux groupes de produits de nature non polymérique : les additifs intentionnels qui sont des adjuvants servant à modifier les propriétés physiques, chimiques et mécaniques des plastiques pour faciliter leur fabrication, usage et recyclage (antioxydants, plastifiants, agents anti-bloc, anti-buée, stabilisants, etc.), et les additifs non intentionnels tels que les résidus de synthèse des polymères (monomères, catalyseurs, solvants), les impuretés des produits de base, les substances dérivées des polymères et additifs formées lors de la fabrication ou de l'utilisation des emballages.

Les matières plastiques sont sujettes à des migrations dont l'importance dépend de la nature chimique du milieu liquide avec lequel elles entrent en contact (eau, alcool, acides et huiles). Les produits liquides ont tendance à pénétrer dans les matériaux plastiques, entraînant leur dilatation ; les additifs se répartissent alors entre le milieu liquide absorbé dans la paroi et celui au contact de la paroi ; au bout d'un certain temps, l'extraction du migrant par diffusion est totale car le volume de liquide emballé est nettement supérieur au volume absorbé. La migration des additifs est donc contrôlée par la vitesse de pénétration de l'aliment dans la paroi. Pour les emballages en papiers, l'extraction des migrants se fait en un temps très court, la pénétration du liquide dans l'emballage étant elle-même très rapide.

3.2.3. *Tests de migration et réglementation*

La réglementation impose l'inertie des matériaux d'emballage vis-à-vis des aliments avec lesquels ils sont mis en contact, c'est-à-dire que les matériaux ne doivent pas céder aux aliments des composés en quantité susceptible de présenter un danger pour la santé humaine et entraîner une modification inacceptable de la composition ou des qualités organoleptiques de l'aliment. À des fins de contrôle, des tests de migration ont été mis en place ; on distingue les tests de migration spécifique, destinés à mesurer le transfert de composés identifiés, et les tests de migration globale, destinés à mesurer la totalité des composés de l'emballage ayant diffusé dans l'aliment. Dans la plupart des cas, on ne connaît ni le nombre ni la nature des produits constituant la migration globale.

Compte tenu de l'évolution permanente de la réglementation européenne et française dans le domaine, il est impossible de décrire un protocole général valable pour tous les matériaux d'emballage, chaque classe de matériaux nécessitant l'éla-

boration de méthodes parfaitement adaptées. À titre d'exemple, on peut décrire les principes des tests de migration des matériaux plastiques, secteur de l'emballage le plus concerné par ces phénomènes. La détermination de la migration se fait avec des solutions modèles (eau distillée, acide acétique à 3 % (p/v) en solution aqueuse, éthanol à 15 % (v/v) en solution aqueuse, huile d'olive rectifiée), en fonction du produit alimentaire à emballer (tableau 43).

Tableau 43 ■ Exemples d'utilisation de liquides modèles pour différents aliments selon la directive sur la classification conventionnelle des aliments.

	Eau	Acide acétique 3 %	Éthanol 15 %	Huile d'olive
Boissons non alcoolisées	X	X	–	–
Pâtes alimentaires	–	–	–	–
Chocolats	–	–	–	X/5
Graisses et huiles	–	–	–	X
Poissons	X	–	–	X/3
Vinaigre	–	X	–	–
Fromages fondus	X	X	–	–
Frites	–	–	–	X/5

Le signe X indique le modèle à utiliser. Le résultat des essais de migration doit être divisé par le chiffre qui suit le signe X. Celui-ci, appelé coefficient de réduction, tient compte de façon conventionnelle du pouvoir d'extraction supérieur du modèle des aliments gras par rapport à certains types d'aliments gras.

Les conditions des tests de migration (durée, température) doivent correspondre à celles de mise en œuvre de l'emballage (tableau 44). Si celui-ci peut être utilisé dans n'importe quelles conditions de durée et de température, des essais de 10 jours à 40 °C et de 2 heures à 70 °C, considérés comme étant les plus drastiques, seront effectués. Enfin, si l'application de ces essais provoque des modifications physiques ou autres sur les emballages, des conditions plus spécifiques devront être recherchées.

Les directives européennes donnent la liste positive de produits de base et d'adjuvants pouvant être employés dans la fabrication d'emballages, indiquent les maxima ne pouvant être dépassés pour les migrations spécifiques et globales, et définissent les tolérances en teneur maximale de résidus et d'impuretés provenant de la fabrication et du traitement des matériaux. Cette réglementation ne se limite pas aux emballages mais à tous les matériaux susceptibles d'entrer en contact avec les aliments. Selon la directive 90/128 CEE, la limite de migration globale inférieure des substances autorisées au contact alimentaire est, aux exceptions mentionnées dans la liste, de 10 $mg{\cdot}dm^{-2}$ ou 60 $mg{\cdot}kg^{-1}$ dans les cas suivants : récipients ou équivalents d'une capacité comprise entre 500 mL et 10 L, récipients ou équivalents dont il n'est pas possible d'estimer la surface en contact avec les denrées alimentaires, dispositifs de fermeture (capsules, joints, bouchons, etc.). Les limites de migrations spécifiques sont bien entendu propres à chaque composant.

Tableau 44 ■ Correspondances entre les conditions d'utilisation des matériaux plastiques et les conditions d'essai.

Conditions de contact d'emploi réel	Conditions d'essai
Durée de contact supérieure à 24 h	
$\theta \leq 5$ °C	10 jours à 5 °C
5 °C < $\theta \leq 20$ °C	10 jours à 20 °C
5 °C < $\theta \leq 40$ °C	10 jours à 40 °C
Durée de contact comprise entre 2 et 24 h	
$\theta \leq 5$ °C	24 heures à 5 °C
5 °C < $\theta \leq 40$ °C	24 heures à 40 °C
40 °C < θ	conformément à la législation nationale
Durée de contact inférieure à 2 h	
$\theta \leq 5$ °C	2 heures à 5 °C
5 °C < $\theta \leq 40$ °C	2 heures à 40 °C
40 °C < $\theta \leq 70$ °C	2 heures à 70 °C
70 °C < $\theta \leq 100$ °C	1 heure à 100 °C
100 °C < $\theta \leq 121$ °C	30 minutes à 121 °C
121 °C < θ	conformément à la législation nationale

3.3. Autres propriétés des emballages

3.3.1. Résistance mécanique

Les emballages protègent les produits de chocs extérieurs par leur résistance mécanique, qui dépend de la rigidité du matériau employé, ou par le conditionnement sous gaz (paquets de chips par exemple). La résistance des matériaux peut être évaluée par des tests à l'éclatement, à la compression et de perforation. Les emballages doivent également pouvoir résister à des modifications de pression interne, comme dans le cas de produits stérilisés. Dans le cas des contenants sous pression (aérosols), il existe des normes strictes (directive européenne GAMMES, 1980).

3.3.2. Conductibilité thermique

Des matériaux isolants peuvent être recherchés lorsque des variations de température positives ou négatives risquent d'altérer la conservation et la qualité du produit. À l'inverse, il est préférable de sélectionner des emballages à conductibilité thermique élevée dans le cas où des traitements thermiques (stérilisation) sont mis en œuvre sur des produits emballés ; c'est une des raisons qui conduit à l'utilisation de boîtes métalliques pour les produits stérilisés. Si pour des raisons de résistance mécanique, des métaux sont employés dans l'armature de l'emballage, il convient d'être attentif à la présence éventuelle de ponts thermiques qui annuleraient très facilement les qualités d'isolation du contenant. Le pouvoir isolant de certains matériaux peut être amélioré en emprisonnant un gaz (air par exemple), comme dans le cas de matériaux de faible densité (mousses, polystyrène expansé, bois, etc.).

3.3.3. Propriétés barrières au rayonnement

Parmi les rayonnements lumineux, ce sont essentiellement les rayons ultraviolets qui ont tendance à dénaturer les produits. Ceux-ci peuvent être préservés par des emballages opaques ou teintés lorsque l'emballage doit rester transparent (boissons). Il est également possible d'utiliser des suremballages en carton ou en bois.

Les rayonnements ionisants sont autorisés pour la désinfection de certains emballages, plastiques y compris. Cependant, des études montrent que des composés volatiles (hydrocarbures, cétones, composés aromatiques) sont formés lors de l'ionisation par faisceau d'électrons des principaux emballages plastiques à usage alimentaire (polyéthylène, polyester, polyproprylène orienté). La quantité de ces composés augmente avec la dose d'ionisation reçue.

4. Matériaux d'emballage

4.1. Matériaux cellulosiques

Historiquement, les premiers matériaux d'emballage étaient d'origine végétale (feuilles pour le transport des baies cueillies, etc.). Il n'est donc pas étonnant de retrouver encore aujourd'hui les fibres de cellulose en tant qu'agents d'emballage (figure 236).

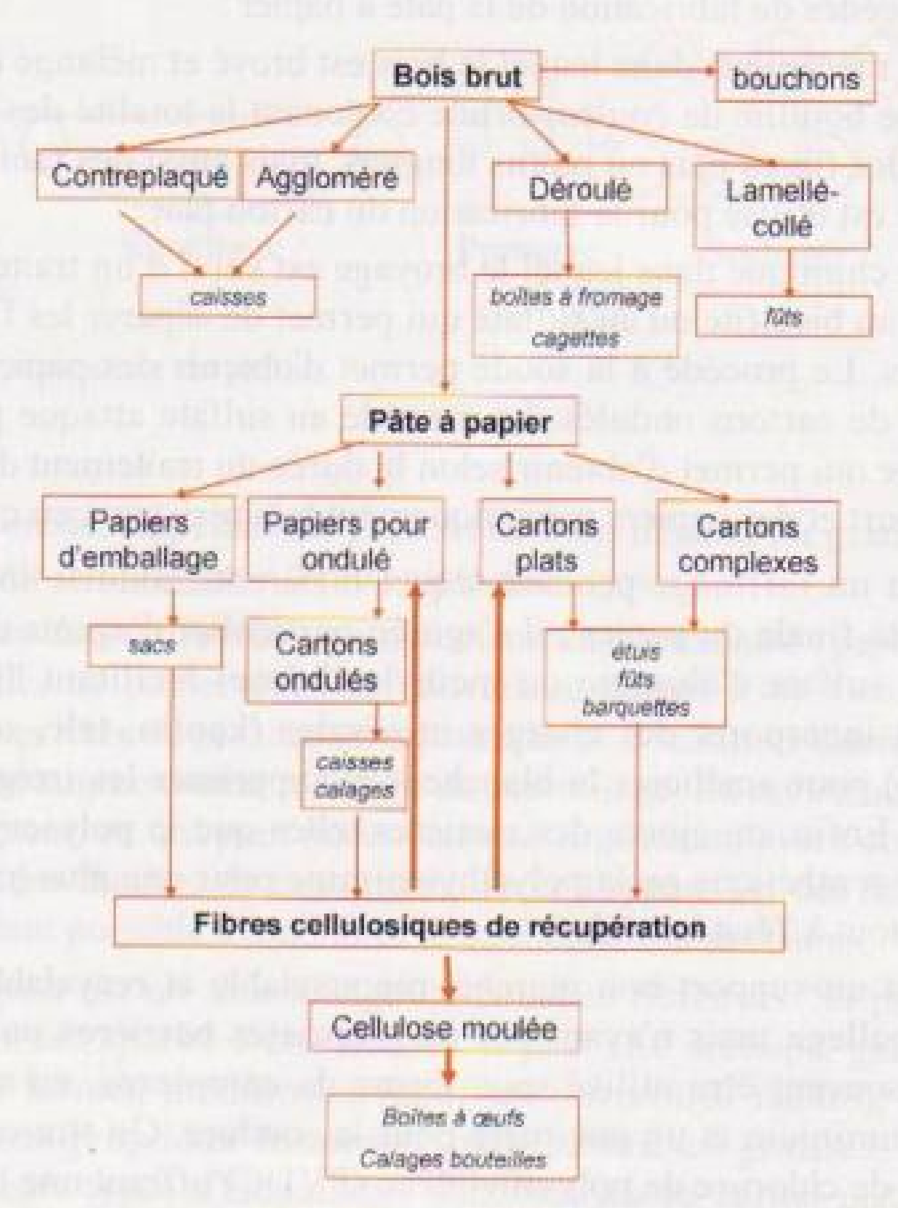


Figure 236 ■ Matières cellulosiques utilisées comme matériaux d'emballage.

4.1.1. Bois

Matériau naturel, homogène, composé de fibres résistantes liées entre elles par une structure plastique élastique, le bois brut présente un grand nombre de qualités : légèreté, bonne résistance mécanique et chimique, isolant thermique, bonne hygroscopicité (absorbe l'eau sans condensation), facilement assemblable et esthétique. Ces propriétés peuvent être modifiées selon les formes de mise en œuvre : contreplaqué (lamelles de bois dans différents sens), aggloméré (chutes compactées à la colle), déroulé (tronc dépecé en pellicule mince pour les boîtes de fromage, les cageots, les bourriches) ou lamellé-collé. Les principales essences utilisées, qui disposent d'un certificat d'aptitude au contact alimentaire, sont le pin, le chêne et le peuplier ainsi que le chêne-liège pour la fabrication des bouchons. Le bois brut est présent dans l'emballage de produits alimentaires de grande consommation que ce soit au niveau primaire (plateaux pour fruits et légumes), secondaire (boîtes de fromage, caisses de bouteille de vin) ou tertiaire (palettes).

4.1.2. Papiers et cartons

Le papier constitue le résultat d'enchevêtrement d'éléments fibreux fins disposés pour former une nappe régulière. La fabrication de la pâte à papier se fait essentiellement à partir de bois tendres (bouleau, eucalyptus, conifères, peupliers) auxquels on ajoute souvent des produits de récupération ou de recyclage (figure 237). On distingue deux procédés de fabrication de la pâte à papier :

- un procédé mécanique dans lequel le bois est broyé et mélangé à l'eau, formant une sorte de bouillie de couleur brune contenant la totalité des composants du bois, avec des fibres plus ou moins longues, mais aussi des tanins, résines, etc. Ce procédé est utilisé pour la fabrication du carton plat ;
- un procédé chimique dans lequel le broyage est suivi d'un traitement chimique à la soude, au bisulfite ou au sulfate qui permet de séparer les fibres des autres constituants. Le procédé à la soude permet d'obtenir des papiers destinés à la fabrication de cartons ondulés. Le procédé au sulfate attaque partiellement la cellulose, ce qui permet d'obtenir selon la durée du traitement des papiers kraft en cycle court et des papiers mécaniquement très résistants en cycle long.

La pâte subit un raffinage pendant lequel différents additifs sont ajoutés pour obtenir la qualité finale du papier ; il s'agit en particulier d'agents de collage (amidon hydrolysé, sulfate d'alumine ou méthylcellulose) facilitant l'impression. On peut également incorporer des charges minérales (kaolin, talc, sels de calcium, oxyde de titane) pour améliorer la blancheur et supprimer les irrégularités de surface du papier. Enfin, on ajoute des matières telles que le polyacrylamide, l'urée-formol, le latex synthétique ou la polyéthylénimine pour une plus grande résistance mécanique, surtout à l'état humide.

Le papier est un support bon marché, renouvelable et recyclable, donnant une rigidité à l'emballage mais n'ayant pas de propriétés barrières ou de soudabilité. Il devra donc souvent être utilisé sous forme de complexes, en association avec une feuille d'aluminium et un polymère pour la soudure. On trouve également des papiers enduits de chlorure de polyvinylidène (PVDC) offrant une bonne barrière à l'eau et à l'oxygène (tableau 45).

Tableau 45 ■ Synthèse des différentes qualités de papiers et de leurs applications.

Appellation	Prétransformation	Propriétés et applications
Cristal	Contrecollage avec aluminium	*beurre, fromages, glaces*
Couché base kraft	Contrecollage avec aluminium Extrusion avec polyéthylène Enduction PVDC Dépôt *hot melt*	Blancheur et excellente imprimabilité *potages, chocolat, biscuits, operculage*
Calandrés opaques base kraft	Procédé identique au coucher basé kraft avec paraffinage	Imprimabilité acceptable *fromages, confiserie*
Sulfurisé véritable	Contrecollage Extrusion polyéthylène Dépôt *hot melt*	Ne se délite pas, bonne résistance à l'humidité, bonne tenue aux matières grasses
Oléophobes blanchis		Ingraissables (*pet foods*), doublure (*sac café*), étiquettes (*produits gras*), emballages (*biscuits*)
Kraft blanchi frictionné	Contrecollage aluminium Extrusion polyéthylène	Très grande résistance mécanique Bonne imprimabilité

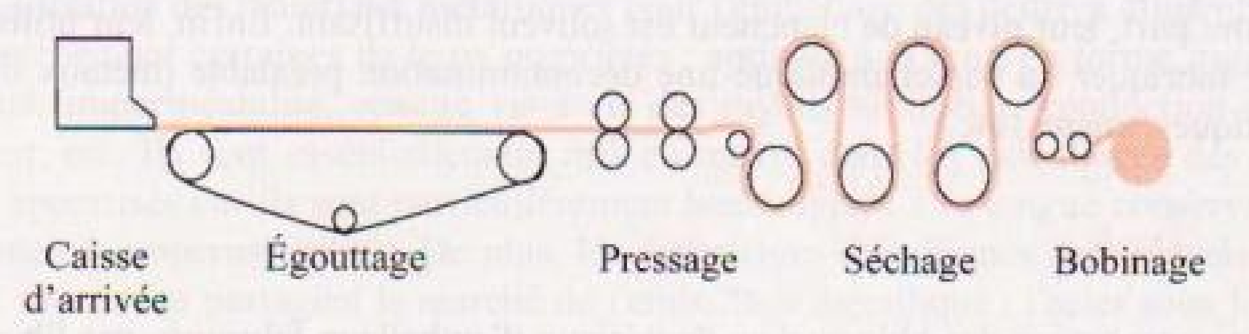


Figure 237 ■ Fabrication du papier.

La limite entre les appellations papier et carton dépend du grammage : on parle de carton à partir de 224 $g{\cdot}m^{-2}$. Il en existe deux types :

– le *carton ondulé* est obtenu en associant une cannelure (papier ondulé) entre deux feuilles de papier dites de couverture (figure 238). Cette structure a de bonnes propriétés de résistance mécanique et d'isolation thermique (air emprisonné) sans augmentation marquée du grammage. En revanche, il ne s'imprime pas facilement, ce qui peut nécessiter une impression avant encollage des cannelures et des feuilles de couverture. Avec l'apparition des nanocannelures, il est cependant possible d'améliorer la qualité de l'impression ;

– le *carton plat* est un assemblage de couches fibreuses. Sa principale qualité réside dans sa capacité à être décoré. Il peut être découpé, gaufré, rainé (pour la mise en forme), prédécoupé (pour les ouvertures faciles), complexé (pour améliorer ses propriétés barrières), traité contre les graisses, les moisissures, etc. Différents types d'emballages sont réalisés en carton plat : des étuis, des tubes, des boîtes, des intercalaires entre les bouteilles, etc.

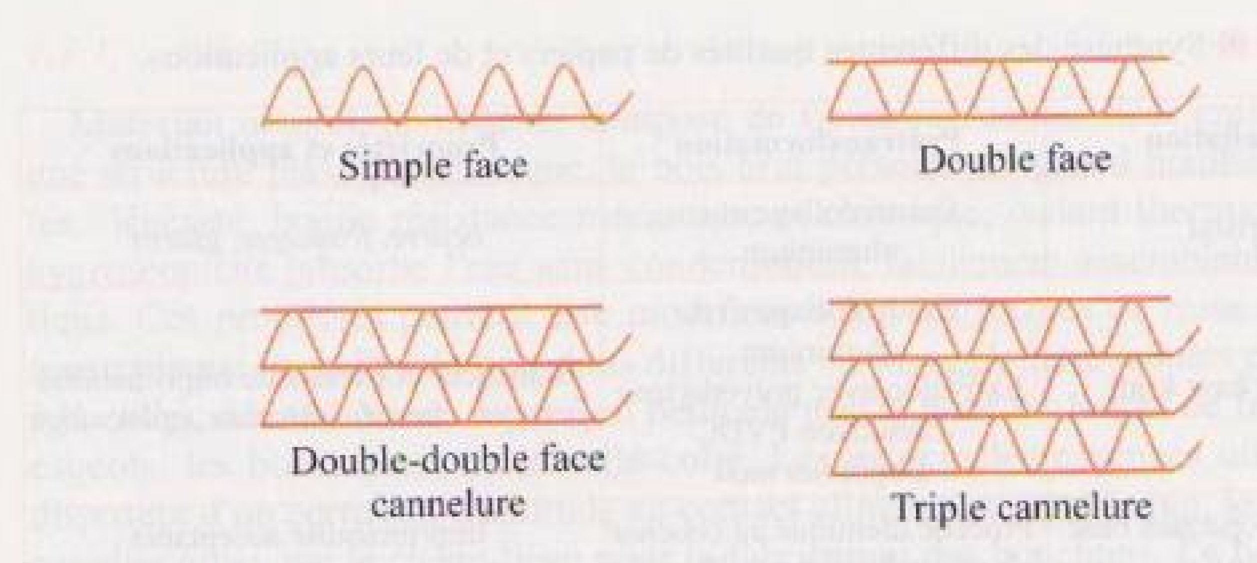


Figure 238 ■ Différentes catégories de carton ondulé.

4.1.3. *Cellulose moulée*

Il s'agit de pâte à papier recyclé mise en forme dans des moules grillagés et séchés. Elle est utilisée pour réaliser des boîtes à œufs et des calages. Les matériaux cellulosiques présentent l'avantage d'être biodégradables et recyclables, à un moindre coût que les fibres vierges obtenues à partir du bois. En revanche, leurs propriétés mécaniques sont inférieures à celles des fibres vierges en raison de la diminution progressive de la longueur des fibres au cours des cycles de récupération. D'autre part, leur niveau de blancheur est souvent insuffisant. Enfin, leur utilisation pour fabriquer du papier implique une décontamination préalable (métaux divers, plastiques, encres, etc.).

4.2. Verre

Le verre est un des plus anciens matériaux d'emballage fabriqués par l'homme. C'est un produit minéral obtenu par fusion, qui se solidifie sans cristalliser. Sa composition est la suivante : 70 % de silice (agent vitrifiant), 14 % de soude (agent fondant), 10 % de chaux, 1 % de magnésie, 1 % de potasse (agents stabilisants), des oxydes métalliques pour la couleur et les propriétés filtrantes souhaitées.

La fabrication du verre s'effectue selon un processus intégré et continu qui permet à l'intérieur d'une même usine d'obtenir directement le produit fini, ce qui n'est pas le cas pour les autres types d'emballages (métal, plastique et carton). Les matières premières sont déversées dans le four de fusion à une température de 1 550 °C. Le verre est ensuite conditionné thermiquement et distribué aux machines par l'intermédiaire du bassin de travail et des canaux de distribution qui délivrent des *gob* (gouttes de verre fondu) à la machine de formage. Il subit par la suite un traitement de surface de protection pour éviter les rayures et autres abrasions qui affaibliraient ses propriétés mécaniques, puis un traitement thermique de recuisson à 550 °C afin d'éliminer les contraintes générées pendant le formage dans la machine. Les emballages sont ensuite contrôlés avant d'être utilisés.

Les emballages réalisés en verre sont classiquement des bouteilles, flacons, pots, bocaux, verres et gobelets. C'est un matériau utilisé dans de nombreux secteurs de l'agroalimentaire (boissons, conserves, confitures, condiments, aliments infantiles,

produits laitiers, etc.). On distingue plusieurs variétés de verres selon leur capacité à absorber les rayonnements thermiques et à faire barrage aux ultraviolets : le verre blanc pour l'eau, certains jus, les confitures ou les yaourts ; le verre champagne (teinte vert-bleu) pour la bière, le vin et l'huile ; les verres feuille morte ambre-rouge pour la bière et certains jus.

Le verre présente de nombreuses qualités : imperméabilité aux gaz, vapeurs et liquides (barrière exceptionnelle), bonne inertie chimique (supérieure à celle de tous les autres matériaux d'emballage), facile à laver et à stériliser, inodore et ne transmet pas les goûts, transparent, colorable (protection contre les rayons ultraviolets par exemple), rigide, résistant à des pressions internes élevées (boissons gazeuses), transparent aux micro-ondes, économique et recyclable. Sa faiblesse majeure repose sur le risque de casse. Par ailleurs, la fermeture correcte des emballages en verre est également un élément essentiel pour garantir l'étanchéité du contenant, donc la protection du produit contenu. Une très grande variété de fermetures existe (en liège, en métal, en plastique) ; elles doivent garantir une fermeture hermétique de l'emballage et le témoignage de l'inviolabilité à la première ouverture, permettre une ouverture aisée tout en autorisant une refermeture en cas de consommation partielle du produit.

4.3. Métaux

L'utilisation des matériaux métalliques pour l'emballage des denrées alimentaires est justifiée par certaines de leurs propriétés : aptitude à la mise en forme, rigidité, solidité, imperméabilité, opacité vis-à-vis des rayons lumineux, conduction de la chaleur, etc. Ils sont essentiellement mis en œuvre dans les emballages des produits appertisés car ils sont particulièrement bien adaptés à la longue conservation (robustesse, imperméabilité). De plus, les emballages métalliques sont recyclables. Deux métaux se partagent le marché de l'emballage métallique : l'acier sous forme de fer-blanc (acier étamé) ou de fer chromé (acier revêtu de chrome) et l'aluminium utilisé sous forme d'alliages.

4.3.1. Acier

Il est obtenu à partir du minerai de fer (la magnétite) mélangée au carbone (coke). L'ensemble est porté à haute température dans des hauts fourneaux afin de réduire le minerai de fer (Fe_3O_4) en fer (Fe). Le fer liquide est figé en coulée continue donnant des plaques molles qui sont ensuite laminées à chaud puis à froid jusqu'à l'obtention d'une tôle de 0,2 mm d'épaisseur. L'étamage est réalisé par voie électrolytique, le dépôt étant ensuite refondu pour obtenir un alliage avec le support. Un traitement de surface est ensuite effectué afin d'éviter les dislocations thermiques puis une protection par le zinc, le chrome ou le nickel est apportée. Un vernissage supplémentaire peut être effectué afin de limiter la corrosion et la migration au contact du produit alimentaire. On réalise à partir des tôles ainsi obtenues les emballages en acier, qui sont pour l'essentiel des boîtes 2 et 3 pièces. La boîte 3 pièces est l'assemblage par agrafage, soudure ou collage d'un cylindre mouluré avec des couvercles pressés. La boîte 2 pièces est obtenue par emboutissage (avec ou sans étirage) suivi d'un vernissage avant décoration extérieure, moulage du bord

et sertissage du couvercle. On peut également trouver des barquettes, des bidons (sirops), des aérosols (crème chantilly), etc.

4.3.2. *Aluminium*

L'aluminium peut être extrait de la bauxite par broyage puis mélange à de la soude à haute température et sous pression. L'oxyde d'aluminium obtenu, encore appelé alumine, est la matière première de la production d'aluminium par électrolyse. Introduite dans des cuves où passe un courant de plus de $3 \cdot 10^5$ A, l'alumine est mélangée à un bain de minerai fondu, la cryolite, qui facilite l'extraction du métal aluminium. Sous l'effet du courant, l'oxygène se dirige vers l'anode et la brûle, tandis que l'aluminium se dépose contre le fond de la cuve qui constitue la cathode. Le métal en fusion est pompé régulièrement et est envoyé en fonderie où il est affiné et éventuellement transformé en alliage selon sa destination finale. Ensuite, il est coulé sous forme de plaques, billes, lingots ou de fils.

Plusieurs alliages d'aluminium sont utilisés en emballage ; les pourcentages variables de magnésium, de manganèse ou de chrome leur confèrent des propriétés différentes (résistance mécanique, sensibilité à la corrosion, aptitude à la mise en forme). Les emballages en aluminium peuvent être des boîtes de conserve (2 pièces uniquement), des cannettes, des barquettes, du film, etc. ; leur caractère plus malléable permet de proposer des ouvertures faciles.

4.3.3. *Les vernis de protection de l'emballage métallique*

Le principal inconvénient des métaux est leur sensibilité à la corrosion, bien maîtrisée dans la très grande majorité des cas par le choix du matériau le mieux adapté à la spécificité du produit à conditionner. Cependant, en raison de la très grande diversité de produits alimentaires (composition, conditions de remplissage et d'entreposage), l'occurrence de phénomènes de corrosion n'est pas à écarter. De ce fait, il est d'usage de recouvrir le métal d'une couche de vernis protecteur, apparenté aux matières plastiques au plan réglementaire.

Les revêtements organiques des emballages métalliques possèdent les propriétés physico-chimiques des polymères (insolubilité et inertie chimique en milieu aqueux). Leurs propriétés mécaniques (adhérence, dureté, souplesse) sont extrêmement importantes ; l'adhérence et l'absence de porosité sont les deux facteurs qui conditionnent principalement la qualité protectrice de ces revêtements. Leur épaisseur varie de 5 à 10 µm.

Plusieurs familles de vernis sont utilisées, en fonction de la nature de l'aliment à conditionner (tableau 46) et du type de boîte utilisée. Ainsi, pour les conserves en boîte 3 pièces, le vernis doit être parfait et résister en priorité à la stérilisation. Avec le développement des boîtes embouties, les déformations mécaniques sont plus importantes et il faut également prendre en compte l'adhérence et la souplesse du vernis. On distingue généralement trois catégories de produit, en fonction de sa nature et des réactions contenant-contenu auxquelles il peut donner lieu :

• *Les aliments soufrés* : les protéines peuvent libérer des produits soufrés au cours du traitement de stérilisation. Ceux-ci réagissent facilement avec le fer et

l'étain en donnant des sulfures métalliques, composés bruns ou noirs qui n'altèrent ni le goût ni la valeur nutritive de la conserve mais qui constituent un défaut d'aspect majeur. Pour palier à ces phénomènes, on utilise des vernis à forte réticulation (phénoliques ou époxyphénoliques) doublés dans certains cas d'un effet masquant par l'incorporation de pigments.

• *Les aliments acides* ne nécessitent pas forcément la présence d'un vernis mais la présence d'étain est parfois souhaitable car elle permet d'éliminer rapidement l'oxygène qui pourrait oxyder le produit. Son rôle réducteur est en effet très apprécié dans les jus de fruits clairs. Pour les cas où un vernis est recommandé afin d'éviter la corrosion du contenant, on utilise classiquement des organosols associés ou non à un époxyphénolique.

• *La bière* en raison de son extrême sensibilité à toute contamination métallique et les *boissons gazeuses*, dont certaines sont très corrosives, demandent le maximum de protection. On utilise alors plusieurs systèmes bicouches (époxyphénolique/vinylique, époxyurée/vinylique, époxyurée/époxyurée).

Tableau 46 ■ Principales familles de revêtements organiques.

Famille	Utilisation	Souplesse	Adhérence	Résistance à la stérilisation
Oléorésineux	Fruits et légumes (vernis antisoufre)	Médiocre	Bonne	Moyenne
Phénoliques	Fruits, légumes, viandes (vernis barrière)	Médiocre	Médiocre	Très bonne
Époxyphénolique	Domaine très large (fruits, légumes, viandes, etc.)	Bonne (dépend du rapport époxy/phénolique)	Bonne	Bonne
Vinyliques	Boissons (bières, boissons carbonatées)	Excellente	Bonne	Bonne
Organosols	Domaine très large pour boîtes embouties	Très bonne	Très bonne	Bonne
Acryliques		Bonne	Très bonne	Moyenne
Époxyurée	Boissons	Bonne	Bonne	Moyenne
Polyesters		Moyenne	Bonne	Bonne

Ainsi, le choix des revêtements organiques intérieurs dépend surtout de l'agressivité de l'aliment, du type de boîte (emboutie ou assemblée), de la nature des couvercles (présence ou non d'une ouverture facile) et de la durabilité souhaitée pour la conserve.

4.4. Plastiques

Il s'agit de matière synthétique constituée essentiellement de macromolécules et susceptible d'être modelée ou moulée en général à chaud et sous pression. Du point

de vue chimique, une matière plastique comprend une phase organique macromoléculaire (polymère ou résine), des charges ou renforts (verre, fibres, etc.) et des adjuvants (plastifiants, stabilisants thermiques, anti-UV, colorants, etc.). D'une manière générale, on considère deux types de résine : les thermoplastiques qui ramollissent au chauffage et durcissent au refroidissement, ceci pouvant être réalisé plusieurs fois, et les thermodurcissables pour lesquels une seule mise en forme est possible. Les plastiques sont issus de l'industrie pétrochimique à l'exception de la cellophane obtenue par traitements chimiques de la cellulose.

4.4.1. Composition

4.4.1.1. Polymères

Il s'agit d'enchaînements d'un grand nombre de monomères tels que le polychlorure de vinyle (PVC) constitué de monomères de chlorure de vinyle ($CH_2 = CHCl$) ou le polypropylène (PP) constitué de monomères de propylène. Différentes structures de polymères peuvent être rencontrées : des structures linéaires formées d'un type de monomère (homopolymère) ou de l'association de deux types de monomères (copolymère), des structures ramifiées de type homopolymère ou copolymère greffé qui tendent à réduire la mobilité des molécules, ou des polymères tridimensionnels. Les propriétés des polymères sont conditionnées par leur arrangement dans l'espace (coexistence de zones amorphes et cristallines) et la densité d'encombrement des chaînes (polyéthylène haute et basse densité, par exemple).

Toutes les matières plastiques offrent des propriétés d'imperméabilité et d'innocuité souvent satisfaisantes même dans une structure d'emballage monocouche : on parle de matériaux de structure. Pour les aliments particulièrement sensibles à l'oxydation, à la lumière ou aux pertes d'arômes, on utilise des polymères dits barrières, qui sont mis en œuvre en emballages multicouches en association avec des matériaux de structure (figure 239).

• *Les polymères de structure* (tableau 47) sont choisis en fonction du type de conditionnement souhaité pour le produit ; ils offrent des caractéristiques très variées comme la résistance à la congélation, à la stérilisation, aux micro-ondes, l'attractivité dans les rayons des magasins, la praticité d'utilisation pour le consommateur, etc.

• *Les polymères barrières* (tableau 48) présentent de très faibles perméabilités à l'oxygène, au gaz carbonique et aux arômes. La tendance actuelle favorise leur utilisation mais en raison de leur coût, ils ne sont jamais utilisés en monocouche.

À l'image de l'éthylène d'alcool vinilyque (EVOH) qui est un copolymère, il est fréquent d'associer deux polymères afin de cumuler leurs propriétés. Les copolymères ne doivent pas être confondus avec des systèmes multicouches qui permettent également d'obtenir des propriétés complémentaires.

4.4.1.2. Charges

Ce sont des substances inertes d'origine minérale ou végétale, dont le rôle est de modifier les propriétés mécaniques, thermiques et électriques, d'améliorer l'état

Tableau 47 ■ Principaux polymères de structure : propriétés et applications.

Polymère	Propriétés					Applications
	Perméabilité		Résistant	Sensible	Autres	
	Vapeur d'eau[a]	O_2[b]				
Polyéthylène basse densité (PEBD)	10	7 000	UV, acides et bases non oxydants, solvants polaires		Soudable, flexible, imprimable, transparent	Sacs, sachets, boîtes, tubes, flacons, films rétractables et étirables, barquettes, joints
Polyéthylène haute densité (PEHD)	5	2 100	Chocs, stérilisation		Rigide, opaque, imprimable	Bouteilles, flacons, tubes, bouchons
Polypropylène (PP)	6 à 10	1 800 à 3 600	Contraintes mécaniques et thermiques (micro-ondes, stérilisation), solutions aqueuses minérales, acides et bases dilués	UV, oxydation	Rigide	Films, boîtes, barquettes (plats cuisinés), barquettes alvéolées (biscuits), pots (yaourt), bouchons, tubes
Polychlorure de vinyle (PVC)	35	120	Produits chimiques, graisses	Chaleur, lumière et oxydation	Rigide, brillance, transparence	Films, bouteilles (huile, vinaigre, vin, sirop), barquettes, boîtes
Polystyrène (PS)	140	4 000	Acides dilués, solutions aqueuses et alcools	UV, oxydation et solvants organiques	Rigide ; transparent (PS cristal) ; opaque, brillant, sécable (PS choc) ; léger, thermoformable (PS direct gazing)	Boîtes (œufs), pots (yaourt), gobelets jetables, bouchons, barquettes filmées (viande)
Polystyrène expansé (PSE)					Isotherme, moulable	Barquettes (viande et poisson)
Polyéthylène téréphtalate (PET)	32	65	Chocs, esters, aromatiques, alcools, graisses, bases et acides dilués, oxydation, lumière		Brillant, imprimable, transparent	Corps creux soufflés (remplace PVC) pour liquides alimentaires (alcools, eaux)
Polyamides (PA)	50 à 170	3 à 50	Produits chimiques	Acides, amines, lumière	Souple	Très diverses (plus de 30 PA couramment utilisés)

[a] : en [$g \cdot m^{-2} \cdot jour^{-1}$] à 38 °C, 90 % H_R, 25 µm d'épaisseur ;
[b] : en [$cm^3 \cdot m^{-2} \cdot jour^{-1} \cdot atm^{-1}$] à 23 °C, 0 % H_R, 25 µm d'épaisseur.

Tableau 48 ■ Principaux polymères barrières : propriétés et associations.

Polymère	Propriétés				Associations
	Perméabilité		Sensible	Autres	
	Vapeur d'eau[a]	O_2[b]			
Éthylène d'alcool vinylique (EVOH)	22 à 60	0,1 à 1,4	Humidité	Imperméable au CO_2 et aux arômes	Avec polyoléfines (PE ou PP) imperméables à l'eau
Chlorure de polyvinylidène (PVDC)	0,5 à 3	0,6 à 10	Chaleur	Imperméable au CO_2 et aux arômes	Avec PS, PVC, PC
Polyacrylonitrile (PAN)	95	12		Imperméable au CO_2 et aux arômes	

[a] : en [$g{\cdot}m^{-2}{\cdot}jour^{-1}$] à 38 °C, 90 % H_R, 25 µm d'épaisseur ;
[b] : en [$cm^3{\cdot}m^{-2}{\cdot}jour^{-1}{\cdot}atm^{-1}$] à 23 °C, 0 % H_R, 25 µm d'épaisseur.

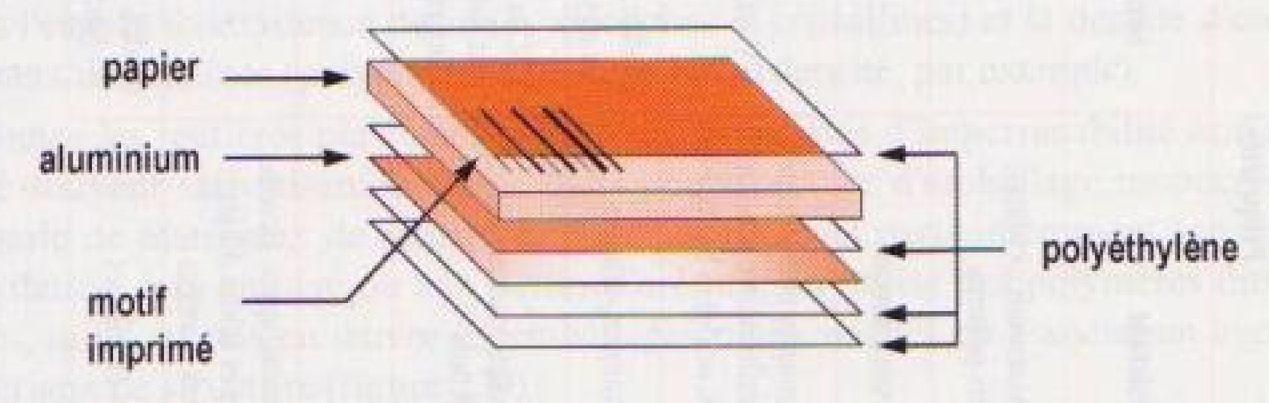


Figure 239 ■ Emballage multicouche.

de surface et de réduire les prix de revient. Ces composés sont dispersés dans la matrice polymérique. Il existe des charges sphériques (poudres ou farines) qui améliorent la coulabilité des résines et leur résistance à la compression, des charges fibreuses (cellulose, verre) qui augmentent la résistance à la rupture et la rigidité, et des charges minérales (craie, silice) qui améliorent les propriétés électriques, la résistance à la chaleur et à l'humidité et augmentent la densité.

4.4.1.3. Adjuvants

Ce sont en général des composés organiques ou organométalliques, de poids moléculaire plus faible que les polymères, capables de modifier les propriétés physiques ou chimiques du polymère. On distingue :

– les *plastifiants* pour améliorer les propriétés mécaniques des plastiques en s'insérant entre les chaînes moléculaires ;

– des *stabilisants* pour empêcher l'altération des matériaux pendant leur mise en œuvre et leur utilisation : antioxydants pour les polyoléfines (PP, PE, PS) particulièrement sensibles à l'oxydation, anti-UV pour les PET, PS et PA qui absorbent beaucoup dans l'ultra-violet et peuvent ainsi se photodégrader ou se photo-oxyder, antiozonants pour les caoutchoucs particulièrement sensibles à l'ozone et aux fongicides, etc. ;
– des *lubrifiants* pour faciliter le façonnage sur les calendreuses, extrudeuses et presses et réduire les frottements résine/métal ;
– des *antistatiques* pour améliorer l'écoulement de surface des charges électrostatiques, ce qui rend le plastique conducteur en surface et s'oppose au dépôt de poussières ;
– des *ignifugeants* qui s'opposent à la propagation des flammes ;
– des *colorants* qui doivent satisfaire à des impératifs de stabilité à la lumière, etc. La tendance actuelle est à la suppression des pigments minéraux qui contiennent des métaux lourds pour des pigments organiques qui offrent néanmoins une opacité plus faible et une moins grande résistance à la migration et aux UV.

Un adjuvant est utilisé pour sa fonction primaire mais peut avoir des effets secondaires qui peuvent être maîtrisés par l'addition d'un autre adjuvant. Si l'on atteint leur limite de solubilité dans le polymère, ils peuvent exsuder en surface. Ils sont particulièrement surveillés par la réglementation car leur faible poids moléculaire leur permet de migrer facilement.

4.4.2. Mise en œuvre

Les plastiques étant des matériaux modelables, il existe de nombreuses techniques de mise en œuvre :
– *l'extrusion* comprend un chauffage et un malaxage dans une vis sans fin pendant lequel a lieu la polymérisation, ce qui permet d'orienter le polymère. On lui donne ensuite la forme voulue en sortie de filière ;
– *l'extrusion-gonflage* consiste à donner du volume en injectant de l'air en sortie d'extrudeuse, afin de rééquilibrer l'orientation des polymères et d'obtenir une résistance mécanique et des caractéristiques barrières différentes ; c'est notamment le mode d'obtention de certains sacs plastiques ;
– *l'injection* permet de répartir précisément la quantité de matière voulue.
– *le thermoformage* consiste à étirer une feuille par aspiration, soufflage ou poinçonnage sur la paroi d'un moule. À l'inverse de l'injection, il est difficile de répartir précisément la matière et les rebords sont souvent plus épais. Cette technique permet de fabriquer des emballages multicouches, ce qui n'est pas possible en injection ;
– *le soufflage de préforme* consiste à ne former l'emballage qu'au dernier moment à partir de préformes injectées ou thermoformées. Cette technique permet un gain important dans le transport de l'emballage, mais impose que le fabriquant du produit à conditionner soit équipé d'une souffleuse.

4.5. Biomatériaux

La prise en compte des questions environnementales dans le choix des consommateurs (notamment avec la mise en place du tri sélectif) incite au développement de nouveaux matériaux d'emballages renouvelables d'une part, et biodégradables d'autre part. Ceux-ci peuvent être conçus à partir de quatre grandes catégories de biopolymères : les polyosides, les protéines, les composés lipidiques et les polyesters (obtenus par biosynthèses végétales ou bactériennes). Les films constitués de polyosides (cellulose et dérivés, amidon et dérivés, gommes, etc.) ou de protéines (gélatine, zéine, gluten, etc.) présentent généralement de bonnes propriétés mécaniques et optiques, mais sont très sensibles à l'humidité et ont de mauvaises propriétés barrières à la vapeur d'eau. En revanche, les films à base de lipides (cires, lipides et dérivés) ou de polyesters (acide polylactique (PLA)) présentent de bonnes propriétés barrières à la vapeur d'eau mais sont généralement opaques et peu déformables. Ils sont de plus très fragiles et peu stables (sensibles au rancissement).

4.5.1. Utilisation de biopolymères pour la fabrication d'emballages

Trois techniques différentes utilisant des matières premières d'origine agricole renouvelables ont été proposées pour la fabrication de bio-emballages :

- les mélanges de polymères synthétiques-biopolymères : il s'agit plutôt d'emballages biofragmentables que d'emballages biodégradables, l'objectif étant de rendre les polymères synthétiques plus sensibles aux attaques microbiennes. Les principaux matériaux de ce type font appel à l'amidon ; il existe aussi des mélanges cellulose/polyuréthane, gluten/résine synthétique, protéines végétales/composés vinyliques, caséines/polymères synthétiques ;
- l'utilisation de matières premières d'origine agricole comme substrat de fermentation pour la production de polymères bactériens, des polyesters biodégradables et recyclables. On retrouve dans cette catégorie les acides polylactiques et polyglycoliques, les polycaprolactones et les chitosanes. La limite de ces biomatériaux est leur coût d'extraction et de purification ;
- l'utilisation directe de polymères agricoles permet de générer des emballages moins sophistiqués, à bas coût compte tenu du faible coût des matières premières ; ils sont entièrement biodégradables et comestibles lorsqu'aucun additif non alimentaire ne leur est ajouté. C'est l'amidon, peu coûteux, largement disponible et relativement facile à manipuler qui est la matière première agricole la plus utilisée.

4.5.2. Propriétés et applications des bio-emballages

Les bio-emballages doivent répondre aux mêmes contraintes que les emballages en terme de propriétés barrières, mécaniques, de non-toxicité, etc. Ces propriétés dépendent de la nature du matériau utilisé, de son mode de fabrication et des applications. Des plastifiants, des agents de pontage, antimicrobiens, antioxydants ou de texture peuvent être ajoutés pour améliorer les propriétés fonctionnelles du bio-emballage, au risque d'accroître son impact environnemental. Les matériaux à base

de biopolymères possèdent des propriétés barrières aux gaz élevées, en particulier à l'égard de l'oxygène. Les composés lipidiques possèdent en plus de bonnes propriétés barrières à l'eau. Les principales applications de ces matériaux sur le marché de l'emballage concernent l'ensachage, la fabrication de barquettes et le calage.

L'une des applications des bio-emballages concerne les emballages comestibles, c'est-à-dire des films et enrobages pour certains produits (pelliculage de fruits avec de la cire, enrobages de chocolat ou de sucre pour les confiseries, etc.) : les enrobages sont formés directement sur l'aliment alors que les films sont formés à part puis appliqués sur l'aliment. Ces films et enrobages comestibles doivent avoir des propriétés sensorielles aussi neutres que possible. Ils peuvent être utilisés pour améliorer l'aspect de surface ou le toucher du produit, encapsuler des colorants, arômes, épices afin d'en maintenir une concentration élevée, etc.

13

Conditionnement

Le mot conditionnement vient du latin *condere* qui signifie stabiliser. Le conditionnement peut donc être défini comme une technique de présentation d'un produit en adéquation avec les exigences de qualité et de praticité de la distribution et des consommateurs. Le conditionnement des produits alimentaires peut se faire selon le type de produit par remplissage, par comptage ou par pesée. Il peut éventuellement être effectué dans des conditions aseptiques en fonction des traitements de stabilisation post-conditionnement appliqués (appertisation, hautes pressions, ionisation). Le conditionnement aseptique peut s'appliquer soit à des produits frais, soit à des produits préalablement pasteurisés ou stérilisés en vrac (UHT) ; il permet par filtration stérilisante de l'air de réduire les contaminations microbiennes ou par modification de l'atmosphère de limiter le développement microbien et certaines réactions chimiques altérant la qualité sensorielle. Les produits traités thermiquement en vrac puis conditionnés de façon aseptique sont en général de meilleure qualité sensorielle et nutritionnelle que ceux ayant subi un traitement thermique après conditionnement. Le conditionnement aseptique met en œuvre soit des emballages dont la fabrication est externalisée, soit des emballages fabriqués *in situ*.

Le conditionnement sous vide et le conditionnement sous atmosphère modifiée sont en plein développement en agroalimentaire car ils sont bien adaptés aux grandes tendances du marché (allongement de la durée de conservation des produits frais, amélioration de la qualité) ; en outre les progrès réalisés dans le domaine des matériaux d'emballage ont permis d'améliorer leur praticité (films repositionnables, valves cuisson vapeur, films résistant à la cuisson, etc.).

1. Conditionnement sous vide

Le conditionnement sous vide fait son apparition dans les années 1960. L'objectif est alors de supprimer de l'environnement de l'aliment le principal agent d'altération qu'est l'oxygène. Le conditionnement sous vide permet d'atteindre une teneur résiduelle en O_2 de 1 %. Cette dernière peut encore être réduite grâce à des phénomènes respiratoires tissulaires du produit (dans le cas de la viande par exemple) ou

de bactéries, et remplacée par du gaz carbonique. L'association de ces deux effets (disparition de l'oxygène et accumulation de gaz carbonique) est responsable de l'inhibition de la flore aérobie d'altération et des phénomènes d'oxydation.

Cette technique de conditionnement nécessite un produit de bonne qualité, notamment au plan bactérien, un emballage adapté qui assure la résistance mécanique, l'étanchéité et l'imperméabilité maximale aux différents gaz ainsi que des machines de conditionnement adaptées. Les emballages utilisés pour le conditionnement sous vide sont généralement de deux types :

- des *emballages semi-rigides* constitués d'une barquette plastique thermoformée recouverte d'un film. La machine est alimentée par deux bobines de film : un film intérieur thermoformable transformé en barquette dans laquelle le produit est déposé et un film supérieur qui sert d'opercule. Le vide est fait dans la barquette avant la soudure hermétique du film supérieur. Ce type de conditionnement est souvent utilisé pour les produits tels que les viandes ou les produits de charcuterie ;
- des *emballages de type sachets* pour lesquels on utilise des machines ensacheuses à balayage gazeux. Dans ces machines, la purge de l'air présent dans l'emballage est assurée par un balayage continu.

Dans le cas d'emballages de moyenne et grande contenance souples ou rigides, on peut utiliser une machine effectuant un vide compensé au travers d'une valve bidirectionnelle.

Le conditionnement sous vide permet la cuisson des aliments et en particulier des plats cuisinés. On parle de cuisson sous vide au sens strict lorsque le produit cru est placé dans un conditionnement, mis sous vide, puis cuit à basse température ($\theta \leq 100$ °C) et refroidi rapidement. Cette technique a été rendue possible par l'apparition des matériaux plastiques souples thermorésistants ayant pour caractéristiques le maintien de la résistance mécanique à haute température, la parfaite inertie chimique pendant la cuisson et la conservation, et l'étanchéité aux gaz et aux arômes. La plupart de ces matériaux sont de type multicouches ; parmi eux, on trouve des sachets non rétractables souvent constitués d'une base polyamide et d'un agent de soudure en polypropylène, utilisés par exemple pour les plats en sauce. En raison de leur relative perméabilité aux gaz, ils ne permettent pas des conservations très longues mais les produits ainsi conditionnés ne l'exigent pas. On trouve également des sacs rétractables co-extrudés, à haute étanchéité, destinés à la cuisson des viandes, foies gras, poissons entiers, etc. La rétractabilité est une caractéristique permettant de réduire les exsudats pendant la cuisson.

Le conditionnement sous vide présente néanmoins quelques inconvénients comme le fait de favoriser le développement de flores anaérobies ou encore, dans le cas de la viande rouge, d'altérer sa couleur. De plus, il est difficile d'obtenir et de maintenir un vide correct dans un emballage. C'est pourquoi ce type de conditionnement a laissé progressivement la place pour certains produits au conditionnement sous atmosphère modifiée.

2. Conditionnement sous atmosphère modifiée

Ce mode de conditionnement apparaît pour la première fois en France au milieu des années 1970. Il a pour objectif d'allonger la durée de vie du produit, de préserver ses qualités organoleptiques et de le présenter de manière plus attractive en limitant les dégradations physiques, enzymatiques, biochimiques et microbiennes. Les machines utilisées sont identiques à celles du conditionnement sous vide, le mélange gazeux étant injecté dans l'emballage après mise sous vide.

2.1. Rôle des gaz

L'atmosphère modifiée fait appel à trois gaz principaux : l'azote, le dioxyde de carbone et l'oxygène. De manière plus anecdotique, il est également possible d'utiliser l'hélium, l'argon et le protoxyde d'azote (tableau 49). La proportion de gaz dans l'emballage doit représenter de l'ordre du tiers du volume, les deux tiers restants étant occupés par le produit.

2.1.1. Azote

L'azote est utilisé principalement pour remplacer l'oxygène dans l'emballage afin de réduire les phénomènes d'oxydation des pigments, des arômes et des matières grasses. C'est un gaz inerte, inodore et peu soluble dans l'eau ou les graisses, évitant ainsi toute rétractation de l'emballage. Il est également utilisé pour éviter l'écrasement de l'emballage (paquets de chips par exemple).

2.1.2. Dioxyde de carbone

Dans certaines conditions (teneur supérieure à 20 % dans l'atmosphère après équilibre de dissolution), le dioxyde de carbone est un agent bactériostatique et fongistatique qui peut retarder la phase de croissance exponentielle et réduire la vitesse de multiplication des moisissures et des bactéries aérobies. Le CO_2 à haute concentration a un effet inhibiteur sélectif auquel les moisissures et les bactéries des genres *Pseudomonas* et *Achromobacter* sont très sensibles. Comparativement, les levures et lactobacilles sont plus résistants, voire insensibles. L'action inhibitrice du CO_2 est d'autant plus marquée que le conditionnement est appliqué immédiatement après la fabrication, lorsque les micro-organismes se trouvent encore en phase de latence et que la charge microbienne est plus faible. Par ailleurs, l'effet inhibiteur du CO_2 augmente lorsque la température diminue en raison de sa meilleure solubilité dans la phase aqueuse du produit ; il est donc particulièrement recommandé de bien réfrigérer les produits conditionnés sous atmosphère enrichie en CO_2.

Le mode d'action du CO_2 n'est pas encore totalement expliqué et plusieurs hypothèses persistent : abaissement du pH intracellulaire entraînant le ralentissement des activités enzymatiques, inhibition spécifique des enzymes de décarboxylation ou non spécifique d'autres enzymes, modification des propriétés de la membrane cellulaire.

De par sa solubilité dans l'eau et les graisses il peut parfois engendrer la rétractation du film sur le produit.

2.1.3. *Oxygène*

L'oxygène est en général le gaz que l'on cherche à remplacer. Toutefois, il est utilisé comme composant du mélange gazeux dans certaines applications. C'est notamment le cas des viandes rouges dont la couleur ne peut être maintenue qu'en présence d'oxygène, ou encore du poisson et des produits de la mer pour éviter le développement de germes pathogènes anaérobies de type *Clostridium*. Par ailleurs, il est indispensable à la respiration des végétaux.

2.1.4. *Autres gaz*

L'hélium est un gaz léger absent de l'air que l'on peut intégrer dans le mélange afin de détecter des fuites.

L'argon possède des propriétés physiques intéressantes : parfaitement inerte, il est plus dense et plus soluble que l'azote, ce qui permet une meilleure efficacité de purge et des consommations en gaz inférieures. Par ailleurs, il inhibe fortement la respiration des végétaux.

Le protoxyde d'azote est un gaz utilisé pour le foisonnement des crèmes et des mousses. C'est un antagoniste de la sécrétion d'éthylène qui possède de plus un pouvoir cicatrisant sur le derme des fruits. Il est également bactériostatique et fongistatique ce qui en fait un composant intéressant dans le cas de la conservation des végétaux. Cependant, il présente l'inconvénient d'être un gaz à effet de serre et il véhicule une image négative auprès des consommateurs.

Tableau 49 ■ Principales propriétés des gaz utilisés en alimentaire.

	N_2	CO_2	O_2	He	Ar	N_2O
Résistance mécanique	X					
Préservation couleur			X			
Antioxydant	X				X	
Solubilité		X			X	X
Détection fuite				X		
Anti-organismes aérobies		X				X
Anti-organismes anaérobies		X	X			
Atténuation respiration		X			X	X
Ralentissement maturation						X
Oxygénation			X			
Acidification		X				
Foisonnement						X

2.2. Applications

Le choix de l'atmosphère modifiée pour un produit donné est étroitement lié à son a_w, qui détermine sa sensibilité aux divers agents d'altération (cf. figure 3 du premier volume). On peut donc répartir les applications du conditionnement sous atmosphère modifiée en fonction de trois catégories de produits alimentaires : les produits secs, les produits à humidité intermédiaire et les produits humides.

2.2.1. *Produits secs (a_w < 0,4-0,5)*

La durée de vie de ces produits (lait en poudre, flocons de pomme de terre, légumes déshydratés, café, graines oléagineuses, fruits secs, etc.) est généralement limitée par des phénomènes d'oxydation et de rancissement de la matière grasse : l'azote, utilisé pour réduire la teneur en oxygène dans l'emballage, est donc couramment employé. L'argon peut également être choisi pour une désoxygénation performante de l'atmosphère de l'emballage. La durée de vie de ces produits stockés à température ambiante peut ainsi être triplée ou quadruplée, sans utilisation d'antioxydants.

2.2.2. *Produits à humidité intermédiaire (0,4 < a_w < 0,8)*

La conservation de ces produits s'avère plus difficile car, outre les risques d'oxydation, il faut également prévenir dans ce cas les altérations enzymatiques et le développement des moisissures. On utilise souvent du CO_2 pur ou des mélanges N_2/CO_2, avec un fort pourcentage de CO_2 (requis contre les moisissures). La détermination des pourcentages de chaque gaz dépend également de nombreux autres facteurs comme le type de flore contaminante, la charge initiale en micro-organismes, les conditions d'hygiène et de manipulation, la teneur en additifs, la température de conservation, etc.

On retrouve notamment dans cette catégorie les produits à base de pâte (charcuteries pâtissières, pâtisseries industrielles, etc). Un absorbeur d'oxygène peut être associé au mélange gazeux dans le cas des produits de panification/viennoiserie pour éviter toute modification indésirable de l'atmosphère de conditionnement.

2.2.3. *Produits à forte humidité (a_w > 0,8)*

Le risque de développement des micro-organismes est élevé dans cette catégorie. Le CO_2 est toujours nécessaire, mais la composition du mélange dépend des produits et des exigences de l'utilisateur (type d'emballage, durée de vie, etc.). De nombreux facteurs influent sur l'efficacité du conditionnement, le plus important d'entre eux demeurant la maîtrise de la température.

Cette catégorie englobe la plupart des produits alimentaires :

– la *charcuterie fraîche* : les mélanges gazeux binaires N_2/CO_2 utilisés permettent d'allonger la DLUO de ces produits (saucisses fraîches ou cuites, jambon, boudins, etc.). L'atmosphère modifiée apporte par rapport au sous vide des avantages en terme d'attractivité de présentation du produit (image de produits

frais, produits non adhérents les uns aux autres, meilleur maintien de la couleur) ;

– la *volaille* : les mélanges gazeux 50 % N_2/50 % CO_2 permettent de conditionner les volailles entières ou piécées en doublant leur durée de conservation ;

– la *viande piécée* (tableau 50) : la couleur rouge vif est un élément majeur du choix du consommateur de viande de bœuf. Le conditionnement doit donc permettre de maintenir cette couleur tout en évitant le développement de micro-organismes. Pour cela on utilise des pourcentages d'O_2 compris entre 60 et 70 % pour maintenir la myoglobine à l'état oxydé, et des pourcentages de CO_2 compris entre 20 % (minimum efficace) et 25 % (seuil de précipitation de protéines hydrosolubles responsables du brunissement). Un mélange 70 % O_2/20 % CO_2/10 % N_2 permet ainsi une conservation de la couleur et des qualités microbiologiques sur une période de 21 jours ;

Tableau 50 ■ Comparaison des durées de vie à l'air et sous atmosphère modifiée (66 % O_2/25 % CO_2/9 % N_2) de différentes viandes maintenues à 4 °C.

Produit	**Durée de vie à l'air**	**Durée de vie sous mélange**
Bœuf	4 jours	10-15 jours
Porc	4 jours	6-9 jours
Steaks hachés	2 jours	4 jours
Abats (foie)	1-2 jours	6 jours

– le *poisson* : alors que le conditionnement des poissons fumés et salés se fait sous un mélange N_2/CO_2 (avec 30 à 50 % de CO_2), le cas des poissons frais pose un problème particulier. En effet, la contamination microbienne du produit est assez élevée du fait des opérations d'éviscération et de filetage, et son altération enzymatique favorise le développement de germes aérobies présents dans le mucus ou de spores de germes anaérobies strictes. Les poissons doivent donc être conditionnés dans d'excellentes conditions d'hygiène sous atmosphère modifiée enrichie en CO_2 (mélange 50 % N_2/50 % CO_2), la température étant maintenue voisine de 0 °C et le produit étant très frais (moins de 3 jours après la capture). On peut alors atteindre des durées de vie de l'ordre de 6 à 8 jours. Si un doute persiste sur la qualité du produit, il est préférable d'utiliser un mélange ternaire avec 5 à 10 % d'O_2 pour éviter tout développement de *Clostridium*.

Pour l'ensemble de ces produits, le conditionnement sous atmosphère modifiée fait appel à des emballages les plus étanches possibles afin de conserver les proportions du mélange gazeux introduit. Ce n'est pas le cas pour le conditionnement des végétaux de « 4[e] gamme » qui réalisent des échanges respiratoires avec leur environnement (figure 129) ; ces derniers doivent être maintenus même à un taux faible afin de ne pas entraîner l'asphyxie du produit (métabolisme fermentaire en l'absence d'oxygène), en veillant à l'adéquation entre le matériau d'emballage, le produit et le mélange gazeux. Le métabolisme des végétaux induit une modification de la composition de l'atmosphère de conservation, qui ne dépend à l'équilibre que de la respi-

ration du végétal et des propriétés diffusives du film. La création d'une atmosphère optimale nécessite de disposer de films présentant une large gamme de perméabilité au gaz (oxygène, gaz carbonique et dans certains cas éthylène) et à la vapeur d'eau pour couvrir la plage d'intensité respiratoire des végétaux (cf. chapitre 7, § 4.).

2.3. Réglementation

La réglementation européenne impose par la directive 94/54/CE la mention « conditionné sous atmosphère protectrice » sur l'étiquetage. La directive 95/2/CE, modifiée par les directives 96/85/CE, 98/72/CE et 2001/5/CE, définit les gaz de conditionnement comme des additifs et n'autorise que le dioxyde de carbone, l'azote, l'oxygène, l'argon, l'hélium et le protoxyde d'azote en tant que gaz de conditionnement, propulseurs ou correcteur d'acidité, et ce sans restriction ou limite maximale d'utilisation. Les critères de pureté pour ces six gaz autorisés sont définis par la directive 96/77/CE modifiée par les directives 96/86/CE et 2000/63/CE. Par ailleurs, la directive 2001/5/CE autorise l'hydrogène comme additif alimentaire. Aucune de ces directives ne définit de normes pour la qualité microbienne des gaz de conditionnement.

Références bibliographiques
de la quatrième partie

Aplincourt M, Marsal P, Prudhomme JC (1998). Interactions physico-chimiques entre matériaux d'emballage métallique et constituants alimentaires : corrosion et protection. *In :* Multon JL, Bureau G, *L'emballage des denrées alimentaires de grande consommation*, Tec & Doc Lavoisier, 263-295.

Couturier Y (1998). Les matériaux cellulosiques. *In :* Multon JL, Bureau G, *L'emballage des denrées alimentaires de grande consommation*, Tec & Doc Lavoisier, 531-554.

De Leiris JP (1998). Les films plastiques. *In :* Multon JL, Bureau G, *L'emballage des denrées alimentaires de grande consommation*, Tec & Doc Lavoisier, 410-425.

Drulhe E (1998). Emballage sous atmosphère modifiée. *In :* Multon JL, Bureau G, *L'emballage des denrées alimentaires de grande consommation*, Tec & Doc Lavoisier, 635-655.

Feigenbaum A (1998). Évaluation de la migration des matériaux plastiques au contact des aliments par des méthodes alternatives. *In :* Multon JL, Bureau G, *L'emballage des denrées alimentaires de grande consommation*, Tec & Doc Lavoisier, 71-103.

Gerardi F, Couchoud JJ (1998). Les emballages rigides en matière plastique pour les denrées agroalimentaires. *In :* Multon JL, Bureau G, *L'emballage des denrées alimentaires de grande consommation*, Tec & Doc Lavoisier, 427-443.

Germain Y (2000). Conception de films d'emballage à perméabilité contrôlée. *In :* Gontard N, *Les emballages actifs*, Tec & Doc Lavoisier, 43-64.

Gontard N, Guilbert S (1996). Bio-emballage : technologies net propriétés de matériaux comestibles et/ou biodégradables d'origine agricole. *In :* Mathlouthi M, *Emballage et conservation des produits alimentaires*, Polytechnica, 181-208.

Gontard N (1997). Utilisation des emballages actifs pour améliorer la conservation des aliments. *In : La conservation des aliments*, neuvièmes rencontres AGORAL, Tec & Doc Lavoisier, 275-284.

Gontard N (1999). *L'emballage des produits alimentaires : Pourquoi emballer et comment ?* Bulletin du réseau TPA n° 16.

Gontard N (2000). Panorama des emballages alimentaires actifs. *In :* Gontard N, *Les emballages actifs*, Tec & Doc Lavoisier, 1-29.

Guerin J (1998). Emballage pour cuisson sous vide. *In :* Multon JL, Bureau G, *L'emballage des denrées alimentaires de grande consommation*, Tec & Doc Lavoisier, 869-871.

Guilbert S, Cuq B (1998). Les films et enrobages comestibles. *In :* Multon JL, Bureau G, *L'emballage des denrées alimentaires de grande consommation*, Tec & Doc Lavoisier, 471-530.

Hugel R, Pajean G (1998). Le verre d'emballage. *In :* Multon JL, Bureau G, *L'emballage des denrées alimentaires de grande consommation*, Tec & Doc Lavoisier, 297-324.

Jasse B, Seuvre AM, Mathlouthi M (1996). Perméabilité et structure dans les matériaux d'emballage polymères. *In :* Mathlouthi M, *Emballage et conservation des produits alimentaires*, Polytechnica, 1-25.

Hugel R (1998). Emballage et environnement : le contexte. *In :* Multon JL, Bureau G, *L'emballage des denrées alimentaires de grande consommation*, Tec & Doc Lavoisier, 1015-1027.

Lox F, Pascat B (1998). Qualité des emballages : migration. *In :* Multon JL, Bureau G, *L'emballage des denrées alimentaires de grande consommation*, Tec & Doc Lavoisier, 107-128.

Multon JL, Borghese T, Sauvage F, Bureau G, Feigenbaum A (1998). Les fonctions de l'emballage. *In :* Multon JL, Bureau G, *L'emballage des denrées alimentaires de grande consommation*, Tec & Doc Lavoisier, 6-103.

Pascat B (1997). Le couple : produit alimentaire/emballage-conditionnement *In : La conservation des aliments*, neuvièmes rencontres AGORAL, Tec & Doc Lavoisier, 123-134.

Ranno JP, Lemaire D (1998). L'emballage aseptique. *In :* Multon JL, Bureau G, *L'emballage des denrées alimentaires de grande consommation*, Tec & Doc Lavoisier, 579-596.

Rocher E (1997). *Nature et rôle des emballages, dans de bons emballages pour de bons produits.* Les éditions d'organisation, 16-29.

Varoquaux P (2000). Les films à perméabilité aux gaz ajustable : application aux fruits et légumes. *In :* Gontard N, *Les emballages actifs*, Tec & Doc Lavoisier, 89-108.

Index



Imprimé en France par EMD S.A.S. - 53110 Lassay-les-Châteaux
N° d'imprimeur : 19013 - Dépôt légal : mars 2008
N°888 (II) - GP80°

2

Technologie des produits alimentaires

La maîtrise de la qualité des aliments et le développement de nouveaux produits en adéquation avec les multiples exigences du marché impliquent de la part des responsables techniques du secteur agroalimentaire une démarche de plus en plus rigoureuse. Celle-ci s'appuie notamment sur les acquis scientifiques en microbiologie et physico-chimie des aliments, et sur les technologies mises en œuvre dans leur élaboration et leur conservation.

Science des aliments — **Biochimie • Microbiologie • Procédés • Produits** expose l'ensemble des fondements biologiques et physico-chimiques nécessaires à la maîtrise de l'élaboration des aliments et de leur évolution suivant les conditions de conservation, ainsi que les bases thermodynamiques des procédés mis en œuvre.

- **Le volume 1, « Stabilisation biologique et physico-chimique »** décrit les phénomènes microbiologiques, biochimiques et physico-chimiques impliqués dans l'évolution de la qualité des aliments, ainsi que les procédés et moyens technologiques permettant d'en assurer la stabilité biologique et physico-chimique.
- **Le volume 2, « Technologie des produits alimentaires »** présente les bases biologiques, physico-chimiques et technologiques de l'élaboration des principaux aliments d'origine animale et végétale, ainsi que les perspectives en matière de technologie d'assemblage qu'offre le développement des ingrédients alimentaires.

Cet ouvrage, par son approche synthétique et didactique, s'adresse aux techniciens supérieurs et aux ingénieurs de l'ensemble des secteurs agroalimentaires. Il apporte également une contribution utile à la formation des étudiants des filières agroalimentaires ou biotechnologiques (BTS, IUT, licences, masters et écoles d'ingénieurs).

Romain Jeantet, **Thomas Croguennec** et **Gérard Brulé** sont tous les trois enseignants chercheurs au sein du département agroalimentaire d'Agrocampus Rennes.
Pierre Schuck est ingénieur au laboratoire de recherche en technologie laitière du centre INRA de Rennes.
Ils ont également participé à la rédaction d'*Initiation à la technologie fromagère*, *Les produits industriels laitiers* et *Génie des procédés appliqué à l'industrie laitière*, parus aux éditions Tec & Doc.

2-7430-0888-1

